M. Y. LEIPER

Anno 1926

Tomo XIX

Fasciculo II

MEMORIAS
DO
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Rio de Janeiro - Manguinhos

Summario:

LUTZ, ADOLPHO—Observações sobre Batrachios brasileiros. Observations on brazilian batrachians, pp. 139—159
VILLELA, EURICO e TORRES, MAGARINOS C.—Estudo histo-pathologico do systema nervoso central em paralysia experimental determinada pelo SCHIZOTRYPANUM CRUZI. Histopathology of the Central Nervous System in Experimental Paralysis caused by SCHIZOTRYPANUM CRUZI, pp. 175—199
MAGALHÃES, OCTAVIO—Peste dos "Polmões". Peste dos "Polmões", pp. . . . . 223—227
MICHAELSEN, W.—Schmardaella lutzi Mich., oligochaeto endoparasitico de Hylidas sul-americanas. Über Schmardaella lutzi Mich., ein endoparasitisches Oligochät aus Südamerikanischen Laubfröschen, pp. . . . . 231—239
LUTZ, ADOLPHO—Société de Biologie de Rio de Janeiro. Session de 15 de Septembre de 1926. . . . 237
MAGALHÃES, OCTAVIO DE: e NEVES, AROEIRA—ENSAIOS DE MYCOLOGIA. (Contribuição para o estudo dos cogumelos em Bello Horizonte). ESSAYS ON MICOLOGY. (Contribution to the study of Fungi in Bello Horizonte), pp. . . . . 245—285

AS MEMORIAS, orgão official do Instituto Oswaldo Cruz, são reservadas exclusivamente á publicação de trabalhos originaes nelle realizados.

Apparecerão em fasciculos, sem data fixa, havendo no minimo um volume por anno

Toda a correspondencia deverá ser dirigida á «Redacção das Memorias do Instituto Oswaldo Cruz»—Caixa postal 926—Rio de Janeiro. Endereço telegraphico: «Manguinhos».

Preço do fasciculo 20$000

Digitized by the Internet Archive
in 2025

https://archive.org/details/memorias-do-instituto-oswaldo-cruz_1926_19_2

Observações sobre Batrachios brasileiros

pelo

DR. ADOLPHO LUTZ

Parte I: O genero Leptodactylus FITZINGER.

(Com as estampas 30–37).

O primeiro impulso para o presente trabalho foi dado pela observação de gyrinos exquisitos e apparentemente desconhecidos que fiz no correr de outros trabalhos. Para a sua determinação era preciso obter primeiramente as formas adultas. Feito isto encontrei serias difficuldades na verificação dos nomes scientificos, porque, não somente o numero de especie descriptas era enorme, mas as descripções, tiradas de material conservado, mal se applicavam ao animal vivo. E' verdade que SPIX deu grande numero de desenhos coloridos de batrachios brasileiros, mas reconheci logo que estas côres eram absolutamente phantasticas e as descripções muito insufficientes. Os originaes ainda existem, mas em mau estado; a sua comparação e as synonymias dadas por PETERS só nos informam sobre um pequeno numero de especies caracteristicas e communs. As descripções de GUENTHER, BOULENGER e muitos outros autores baseiam-se em caracteres anatomicos e proporções, completamente insufficientes para distinguir as numerosas especies. Sendo feitos sem conhecimento dos animaes vivos, dão ideas completamente erradas sobre a coloração de muitas especies e as dimensões muitas vezes referem-se a um unico exemplar quando não faltam completamente. Existem, na verdade, alguns desenhos bons que ajudam muito o trabalho, mas são poucos em relação ao grande numero de especies brasileiras que regulam entre 150 e 200.

Certos caracteres, observados principalmente nos machos, dependem da actividade sexual e por isso não podem ser empregados para distinguir generos e especies, como aconteceu algumas vezes. Muitas especies mostram variedades individuaes constantes ou podem mudar rapidamente de côr e desenho,

a ponto que os exemplares, que na vespera eram semelhantes, na manhã seguinte parecem pertencer a duas ou tres especies differentes. Assim não e para estranhar que na litteratura, aliás muito vasta e espalhada, a mesma especie appareça com varios nomes, ou especies differentes sejam consideradas synonymias.

Reconheci logo que para bem conhecer os nossos batrachios, é mister observar series de individuos em vida e fixar os aspectos typicos nas suas côres naturaes. Tendo reunido em pouco tempo grande numero de batrachios vivos ou bem conservados, lembrei-me da utilidade de incluir um atlas das especies indigenas nas publicações, projectadas para a commemoração do centenario. Combinei com o Prof. BRUNO LOBO, então director do Museu Nacional, de fornecer o material para este fim e dirigir os trabalhos de um artista, empregado pelo Museu. Depois de algum tempo de progresso satisfactorio, o trabalho parou por falta de verba para a publicação, mas a collecção continuou a progredir e conta hoje perto de cem especies brasileiras já descriptas e mais umas trinta apparentemente novas. Mais tarde o instituto pagou pela reproducção de muitas especies em aquarella e outras foram photographadas, de modo que hoje qualquer exemplar vivo pode ser comparado com a maior facilidade.

Sendo impossivel, publicar já todo o atlas, escolhi para a primeira parte o genero *Leptodactylus* que contém a nossa rã mais conhecida. Mais tarde, espero publicar, pelo menos, as especies novas em boas aquarellas e tratar depois das especies já mais ou menos conhecidas.

As estampas e photographias vão accompanhadas de observações appropriadas e deveriam bastar para determinar as especies brazileiras dos estados mais conhecidos. Não repeti minuciosamente as descripções antigas, contidas na monographia de NIEDEN *(Tierreich, Vol.* 46, *Anura,* I) que resume os conhecimentos sobre *Batrachios aglossos* e *arciferos* até fim de 1914, dando quasi todas as referencias bibliographicas. Os trabalhos publicados depois sobre especies nossas são poucos e devem ser citados occasionalmente.

ESPECIES BRASILEIRAS DO GENERO LEPTODACTYLUS

As *Leptodactylidae* lembram as rãs do velho mundo pelo aspecto e pelos habitos, mas são *arcisternios* e têm uma distribuição muito differente. O genero mais importante, *Leptodactylus* (ou *Cystignathus),* se caracterisa pelo esterno com estylo osseo, dentes vomerinos por traz das choanas, dedos da mão e do pé sem discos ou membranas interdigitaes, os do pé bastante compridos, ás vezes com cristas ou suturas lateraes; os ultimos metatarsos sempre unidos. As pupillas são horizontaes; a lingua oval ou claviforme com chanfradura posterior, é livre por traz; o tympano é sempre muito distincto. Uma prega discoidal, mais ou menos distincta, parece constante. O foucinho pode ser pontudo e saliente, principalmente nos machos. O primeiro dedo, mais longo do que o segundo, e uma saliencia media em cima do maxillar são caracteres frequentes.

Na face dorsal o fundo é olivaceo, pardo ou bronzeado, algumas vezes avermelhado. Pode mostrar muitas manchas escuras e raramente falta uma mancha interocular. Geralmente existem pregas glandulares longitudinaes, distribuidas sobre todo o dorso ou limitadas aos lados.

Somente nas especies maiores, os machos adultos têm os braços espessados e excrescencias terminaes e lateraes no rudimento do pollegar, excepcionalmente tambem no peito.

Muitas especies são aquaticas, mas outras são terrestres e algumas se escondem em buracos. Lá tambem depositam os ovos sem contacto immediato com a agua, da qual os gyrinos mais tarde precisam. As aquaticas observadas depositam massas de ovos, envolvidas em espuma, nas aguas onde frequentemente são vigiadas pela mãe. Sobre o desenvolvimento de varias especies existem boas observações por KATE e MIGUEL FERNANDES, parte das quaes posso confirmar por observação propria.

Os gyrinos parecem desenvolver-se rapidamente. Os adultos, em principio de metamorphose, são assaz grandes, prevalescendo côres escuras. A cauda é pouco alta, mas longa e persiste ainda quando os caracteres do adulto já estão indicados.

As especies brasileiras, enumeradas por NIEDEN, com as novas, descriptas por LORENZ MUELLER, regulam em vinte. Algumas têm de ser eliminadas por serem synonymas ou não pertencerem ao genero. Assim o numero total com as minhas addições não deve exceder muito de quinze.

Chave das especies brasileiras de Leptodactylus, observadas por mim.

1. Especies muito grandes e fortes, com cabeça larga. Os machos conhecidos desenvolvem forte espessamento do braço e excrescencias nupciaes no rudimento do pollegar. Habitos aquaticos e crepusculares.

Ambos os sexos com manchas decorativas na região inguinal e na coxa:

Região ileofemoral vermelha com manchas pretas..... *pentadactylus*

A mesma amarella com manchas pretas.

Dorso olivaceo com manchas escuras maiores..... *gigas*

Dorso pardo sem manchas maiores,extremidades com barras transversaes escuras..... *flavopictus*

Faltam as manchas decorativas; dorso com manchas escuras menores e pregas glandulares sobre fundo olivaceo ou bronzeado. Especie commum e espalhada.... *ocellatus*

2. Parecidas com *ocellatus*, porém menores e com foucinho comprido. Mancha da nuca mais on menos dividida, pregas glandulares escuras, coxa por dentro com estria branca longitudinal. Macho com saccos vocaes exteriores. Terrestre. Assobia..... *typhonius*

Mais delgado, as pernas mui compridas. Pregas em parte branco-amarelladas. Macho sem distinctivo. Semiterrestre. Não assobia..... *gracilis*

3. Especies menores que assobiam e se escondem em buracos; differem das especies anteriores pela falta das pregas longitudinaes submedianas. Os nomes se referem a uma estria escura no labio superior, comparada com bigode.

Pregas glandulares dorsolateraes em parte brancas.

Estria coccygea branca, prolongada sobre as pernas..... *mystaceus*

Sem pregas ou estrias brancas..... *mystacinus*

4. Especies visinhas ao grupo anterior, de habitos pouco conhecidos, provavelmente terrestres. Parecem raros.

Costas e uma estria marginal do labio superior avermelhadas. Lembra muito o *mystaceus*..... *rhodomystax*
Faltam estes caracteres. Dorso com muitas manchas escuras sobre fundo claro..... *troglodytes*
5. Especies terrestres, muito miudas e escondidas: Dorso com estrias longitudinaes de côr terracotta, uma marginal de cada lado e uma submediana incompleta..... *trivittatus*
Estrias vermelhas faltam. Grande mancha escura com alveolos claros na nuca..... *nanus*

As seguintes especies, citadas na litteratura, mas não observadas vivas em material brasileiro, não foram incluidas na chave: *Leptodactylus andreae* LORENZ MUELLER, *brevipes* COPE, *bufo* ANDERSSON, *caliginosus* GIRARD, *diptyx* BOETTGER, *hylaedactylus* COPE, *longirostris* BOUL., *prognathus* BOUL. e *pustulatus* PETERS. *L. andreae* approxima-se de *nanus*, mas parece limitado ao estado de Pará e o macho tem dous saccos vocaes lateraes. Algumas especies enumeradas por NIEDEN foram eliminadas, por não terem os caracteres de *Leptodactylus*. As outras precisam de nova comparação e determinação.

AS MAIORES ESPECIES DE LEPTODACTYLUS.

Com o nome *Rana pentadactyla* LAUR. foi descripta uma especie sul-americana que se distingue pelo tamanho extraordinario, a coloração e os caracteres nupciaes do macho. SPIX descreveu uma *R. labyrinthica*, uma *coriacea* e uma *gigas*, consideradas synonymas de *pentadactyla* por PETERS. Parece-me comtudo que *gigas* deveria ser referida a outra especie grande que descobri no norte do Brasil. O typo de SPIX ainda existe, mas, como informa o prof. L. MUELLER, em tão mau estado que não permitte resolver a questão. E' preciso sempre lembrar-se que as côres mais vistosas desapparecem com o tempo. Observei a femea de uma terceira especie grande que se distingue claramente das outras e nomeei-a *L. flavopictus*. Parece haver em outros paizes mais especies d'este grupo, mas aqui só trato das brasileiras.

Quanto a *L. bufo* de ANDERSSON, a probabilidade indica que se trata apenas de *pentadactylus*, especie bastante variavel, mas incluindo exemplares muito parecidos. A côr vermelha provavelmente empallideceu. E' verdade que o *pentadactylus* adulto geralmente tem os dedos rombos no apice, mas isto parece devido a uma especie de desgaste que falta em exemplares novos. De outro lado nenhum *Leptodactylus* grande tem os dedos tão pontudos, como são representados no desenho de ANDERSSON que me parece indicar uma alteração devida as condições de conservação. (Compare-se a estampa 36).

As grandes especies de *Leptodactylus* têm o lado ventral carregado de manchas e vermiculações escuras que são um tanto variaveis, mas assim mesmo podem servir para differenciar as especies. Com o tempo a sua intensidade tambem pode diminuir.

A biologia destas especies não é bastante conhecida para ajudar na differenciação. A primeira e a terceira especie foram observadas na mesma zona, mas a que chamo de *gigas* parece limitada ao norte.

LEPTODACTYLUS PENTADACTYLUS LAUR.

Est. 30, figs. 1, 2, 5 e 6; est. 34, figs. 2 e 3; est. 36, figs. 1 e 2.

São considerados synonymos:

Leptodactylus labyrinthicus SPIX e *gigas* SPIX.

O primeiro nome que se refere ao desenho da parte ventral deve cahir em synonymia, mas me parece que o nome *gigas* deve ser referido a outra especie observada por mim.

Os adultos são facilmente reconhecidos pelo tamanho extraordinario podendo o comprimento alcançar 16 cm., pela cabeça larga e chata com bocca grande e pela coloração das differentes regiões que se conhecem bem nas estampas. Num macho verificámos o peso extraordinario de 850 grams, mas geralmente não passa de 500 grammas.

O lado dorsal é pardo, variando de café com leite até côr de canella, *com* ou *sem* manchas escuras, formando faixas transversaes nas extremidades. O lado ventral tem o fundo claro com muitas manchas irregulares formando um labyrintho. As regiões escondidas pelas pernas encolhidas mostram um fundo de côr salmão intensa passando ao cinnabrio e marcado de manchas pretas. Este desenho caracteristico não se percebe logo depois da transformação, mas já apparece em individuos meio crescidos. Em alguns individuos existe tambem nas axillas. A côr vermelha póde passar á côr branca da barriga por meio de uma zona citrina, mais ou menos larga.

O queixo superior mostra faixas perpendiculares escuras muito mais largas do que os intervallos claros que as separam. Este caracter pode apparecer logo depois da transformação.

Na região mental o queixo póde ser mais uniformemente escuro, apresentando apenas manchas claras relativamente pequenas.

Ha duas pregas glandulares mais ou menos completas que se estendem da região superocular para traz, separando o dorso dos lados. O dorso é granulado e apresenta glandulas elevadas e, ás vezes, pigmentadas de preto, redondas ou formando estrias. Podem ser muito ou pouco accentuadas.

Nas regiões lateraes a vista e o tacto tambem reconhecem glandulas bastante grandes, mas não observei nada na descripção que GUENTHER deu desta rã que possa justificar a sua inclusão no genero *Pleurodema*.

Os lados da cabeça e os do corpo, principalmente na parte superior e anterior, como tambem a face inferior e interna das coxas, são distinctamente granulados. A barriga apresenta a dobra discoidal fina, mas distincta.

A iris têm uma côr de bronze amarella ou avermelhada, principalmente na metade inferior. Entre as duas metades pode haver uma barra escura. A pupilla é ovalar, mais longa do que alta. Percebe-se no meio da margem inferior e ás vezes da superior um pequeno risco preto que dá a impressão de um coloboma imperfeito. O tympano, com dois terços do diametro do olho, tem no centro uma area mais clara que se pode prolongar para cima.

Os machos desta especie, quando adultos, apresentam os braços bastante espessados e o rudimento do pollegar bem desenvolvido e coberto de substancia cornea preta, no apice e de lado. No peito ha excrescencias nupciaes em forma de duas ou tres papillas cujo enduto corneo se pode tornar muito preto. Em periodo de inactividade sexual quasi não são percebidas.

Como já se poderia concluir do tamanho da bocca, estes batrachios se alimentam de animaes maiores. Os adultos podem facilmente engulir um pinto ou uma rã de tamanho consideravel.

O seu aspecto e comportamento lembram mais os sapos que as rãs. A secreção cutanea é acre e muito lubricante.

A especie parece largamente espalhada na zona intertropical, tornando-se rara ou desapparecendo mais para o su'. No Districto Federal parece faltar. Ge ralmente se recebem exemplares isolados, mas obtivemos numero maior de Bahia e Bello Horizonte. Neste ultimo lugar tambem encontrámos gyrinos quasi adultos e observámos a transformação. No norte o nome vulgar desta (e talvez de outras especies maiores) é *gia*.

Existe, sem duvida, muita variação de côr e desenho de um exemplar para outro, mas os extremos se encontram em exemplares da mesma procedencia e tambem não podem ser considerados como dimorphismo sexual.

LEPTODACTYLUS GIGAS SPIX (?)

Est. 30, figs. 3 e 4; est. 31, figs. 1 e 2.

SPIX descreveu uma *Rana labyrinthica* cujo desenho ventral explica o adjectivo e que deve ser referida ao *L. pentadactylus*. Se a *Rana gigas* do mesmo autor fôr differente, pode designar outra especie do norte cujas dimensões justificam o adjectivo. Desta especie obtive tres exemplares em Independencia, caçando á noite na margem de um açude. As aquarellas foram tiradas de exemplares conservados em formol que tinham sido observados em vida, mostrando claramente tratar-se de boa especie. Differe de *pentadactylus* tanto na côr das costas, como no desenho do lado ventral, e onde este têm o fundo vermelho, elle é amarello no *gigas*. O material não chega para decidir qual das duas especies seja mais longa ou mais larga, mas parece que nos adultos haverá pouca differença nas dimensões e no peso. O *gigas* macho tem os braços espessados e as excrescencias nupciaes da mão como o *pentadactylus*, mas as papillas corneas no peito não foram observadas.

Os desenhos dispensam uma descripção.

Infelizmente em muitos annos não me foi possivel obter mais material desta especie que comtudo não deveria ser muito rara na zona onde foi apanhada.

LEPTODACTYLUS FLAVOPICTUS n. sp.

Est. 31, figs. 5 e 6.

Desta especie, procedente de *Mont Serrat* na base do Itatiaia, obtive apenas uma femea adulta, mas esta era perfeita. Foi observada durante a vida e tão bem reproduzida que dispensa uma descripção. Parece claramente occupar uma posição intermediaria entre *pentadactylus* e *gigas* sendo bem distincta de ambos. Distingue-se tambem de *L. bufo* de ANDERSSON que é mais parecido com *pentadactylus*. O dorso lembra o de *pentadactylus*, mas o desenho ventral é bem differente de todos os *Leptodactylus* observados. Como em *gigas* o fundo das manchas ornamentaes é amarello, mas esta côr no *flavopictus* é mais intensa e menos limitada. As curiosas decorações do dorso das extremidades são muito caracteristicas.

LEPTODACTYLUS OCELLATUS (L.).

Est. 31, figs. 3 e 4; est. 33, fig. 7; est. 35, figs. 3 e 4.

A especie de *Leptodactylus*, hoje geralmente conhecida debaixo do nome de *ocellatus* que se refere ao tympano, é a rã mais espalhada e conhecida em todo o Brasil onde não ha falta absoluta de agua. Não pode ser confundida com as tres maiores especies já mencionadas, por ser de coloração e desenho differente, mas approxima-se d'ellas pelo tamanho e os caracteres nupciaes do macho, a voz e os habitos aquaticos. Pelos mesmos caracteres se distingue de *typhonius* e *gracilis*, especies menores de aspecto semelhante. Se os gran-

des machos não podem ser confundidos, o mesmo não se dá com individuos menores dos dous sexos. De facto a litteratura mostra muita confusão com varias outras especies, tanto mais facil, que a comparação não foi feita em material vivo, mas em rãs mortas e, muitas vezes, mal conservadas.

Nossa especie é caracteristica em primeiro lugar pela apparencia geral, em segundo pelas pregas glandulares longitudinaes do dorso e em terceiro pelas cristas lateraes dos dedos do pé; este caracter é pouco accusado durante a vida e não tem valor absoluto, tão pouco como o segundo.

Examinando maior numero de individuos de regiões afastadas, nota-se bastante variação de tamanho, forma, coloração e desenho. O tamanho enorme, observado em alguns machos, é excepcional. As glandulas sexuaes podem funcionar já em machos muito menores que não mostram ainda os braços muito grossos; tambem femeas bem menores já produzem ovos maduros. A forma da cabeça em individuos novos pode ser mais estreita e o rostro relativamente saliente. O fundo, olivaceo ou bronzeado no dorso, pode ser tão escuro que mal apparecem as manchas ennegrecidas ou tão claro que estas chamam logo a attenção. Na região inguinal o fundo pode tornar-se um tanto esverdeado, azulado ou citrino e o desenho na margem dos queixos tambem varia; onde porém se nota as maiores variações, é na pigmentação do lado ventral. Pode faltar completamente, deixando o fundo branco, ou cobril-o quasi completamente com um pontilhado denso, mesmo em individuos novos, lembrando as descripções de *L. caliginosus*. Estas variações, embora de frequencia desigual em differentes lugares, não podem ser classificadas simplesmente de variações geographicas.

Dada a variabilidade consideravel da especie, desisto da descripção minuciosa de um exemplar só que teria apenas um valor individual. O exame das figuras, a comparação com maior numero de individuos (que se pode encontrar mesmo nos mercados) e a observação em vida darão uma ideia boa dos caracteres desta especie.

Não obstante a frequencia da especie, o canto não é d'aquelles que mais se observam. Quando é ouvido até de dia (o que no Rio de Janeiro se dá em periodos varios) parece indicação do inicio da postura. Notei isso no principio do verão, antes da entrada do calor intenso, e outra vez em fevereiro, do dia 15 em diante, na estação de Amorim, perto do Instituto. Achei então posturas com ovos e tambem gyrinos bastante grandes de posturas anteriores. As femeas encontram-se no meio da bola que os ovos formam na agua dos brejos. Neste, e em muitos outros pontos, só posso confirmar as observações minuciosas, dadas pelos FERNANDES.

Os ovos muito pigmentados, apenas com um segmento branco-amarellado, tem um diametro de 1—1,5 mm. O gyrino novo é preto com os branchios mais claros, quando tem 5 mm. de comprimento, incluindo a cauda. Alcança finalmente 4 cm., conservando um tom escuro com linhas obliquas de pontinhos amarellos. A cauda é relativamente longa, 2—3 vezes mais comprida do que alta.

A voz, emettida em intervallos, lembra grandes bolhas de ar, sahindo de um tubo largo e cheio de agua. E' mais fraca do que a do *L. pentadactylus* que tem o mesmo typo. Quando ha muitas rãs os sons succedem-se rapidamente; no outro caso pode haver grandes intervallos. Com os FERNANDEZ pode-se dar o som como «*Mwu*», mas as consoantes são pouco distinctas.

ESPECIES MENORES DE LEPTODACTYLUS.

LEPTODACTYLUS TYPHONIUS (DAUDIN).

(Rana sibilatrix (WIED), *Cystignathus typhonius* DUM. e BIBR. *ex parte).*

Est. 33, figs. 1, 2 e 3; est. 34, figs. 1 e 2.

A especie *L. typhonius* é boa e bem discriminada, embora frequentemente confundida. As femeas não differem muito de exemplares menores de *ocellatus*, mas os adultos deste são muito maiores do que os de *typhonius* cujos machos possuem caracteres muito distinctivos. Faltam as verrugas corneas no rudimento do pollegar e o espessamento do braço, mas existem saccos vocaes exteriores, geralmente recolhidos em duas fendas longitudinaes. Estas e toda a região submental são ennegrecidos, contrastando com o branco lacteo da face ventral. A mancha da nuca é subdividida ou desagregada em duas ou tres manchas menores. As manchas dorsaes são numerosas e pequenas, formando series longitudinaes entre as pregas glandulares bem evidentes. Alguns exemplares mostram uma faixa vertebral branca assaz larga. A apparencia de bigode é menos accentuada do que em *mystaceus* e *mystacinus*, que differem pela falta das pregas submedianas. A cabeça tem o foucinho saliente, o corpo é um tanto allongado e as pernas são bastante compridas. Exemplares em metamorphose reconhecem-se facilmente pelo aspecto mais variegado. NIEDEN dá o *typhonius* como menor do que o *gracilis*, mas no Brasil observei o inverso.

A especie é terrestre e encontrada longe da agua. Esconde-se em tufos de capim ou em baixo de excrementos seccos de boi. Sendo muito espalhada, desde a Argentina até ás Guianas, deve formar uma parte importante nos grandes concertos nocturnos, nos quaes os asobiadores têm um papel importante. Os saccos vocaes devem augmentar consideravelmente a intensidade da voz. Já WIED, que teve occasião de observar os seus habitos, a denominou *Rana sibilatrix.*

Collecionei esta especie tambem na Ilha de Trinidad e na Venezuela (entre Valencia e Caracas). A sua voz é ouvida com muita frequencia.

LEPTODACTYLUS GRACILIS D'ORBIGNY.

Est. 32, figs. 4 e 5; est. 33, figs. 3 e 6.

Esta especie, descripta e figurada por D'ORBIGNY, é bastante espalhada desde as planicies do Rio da Prata e do Rio Grande até aos limites da zona tropical, onde habita lugares acima de mil metros. Collecionei-a em Porto Alegre, Alto da Serra de Cubatão e na Serra da Bocaina e recebi numerosos exemplares de S. Bento em S. Catharina.

Pela côr e pelo desenho, *gracilis* lembra exemplares novos de *ocellatus* e *typhonius*, mas distingue-se pela forma allongada, cabeça muito pontuda, manchas muito numerosas sobre as pernas e entre as pregas salientes do dorso, onde muitas são longitudinaes. Os machos adultos não têm os distinctivos do pollegar, nem os antebraços espessados e o sacco vocal, simples e interno, pouco apparece.

Nos habitos parece intermediaria entre as especies mencionadas.

Não é francamente aquatica ou terrestre. Gosta da visinhança da agua que approveita para esconder-se e fazer as posturas, mas encontra-se passeiando a bastante distancia.

A voz tambem distingue a nossa especie das outras. Segundo K. e M. FERNANDES que fizeram um bom estudo desta especie, o som da sua voz parece-se com aquelle produzido por um martello metallico batendo numa

chapa de metal. Os mesmos autores dão uma figura do gyrino que tambem encontrámos na Serra de Cubatão.

Dou em seguida uma descripção tirada de exemplares da *Serra da Bocaina*. O comprimento não excede 40 mm. (A medida indicada por NIEDEN (57 mm.) só pode ser excepcional). As extremidades posteriores são compridas; a articulação tibio-tarsiana quasi que alcança a ponta do foucinho e a distancia della ao apice do dedo maior é quasi egual ao comprimento dos dois segmentos superiores. Os dedos mostram suturas lateraes, mais accentuadas nos dedos mais longos. Os metatarsos ultimos são quasi unidos, os outros separados por uma membrana. Os tuberculos subarticulares são bem distinctos dos do metatarso; apenas o interno é bem desenvolvido. No metacarpo ha um tuberculo exterior muito grande. Existe uma prega fraca em continuação do quinto dedo do pé e um vestigio de appendice no calcanhar. Os dedos da mão são bastante curtos, o segundo mais curto do que o primeiro.

O ventre, com disco muito accentuado, mostra a côr branco-amarellada, virando para o citrino nas ilhargas. A cabeça é bem comprida. O foucinho pontudo e saliente sobre a bocca. No dorso existem cinco pregas branco-amarelladas, das quaes a mediana muito mais longa. As submedianas são menos distinctas que as lateraes. Entre as pregas encontram-se muitas manchas pretas, sobre fundo olivaceo ou bronzeado, e algumas brancas na metade posterior entre as duas linhas lateraes.

O tympano, menor do que o olho, é castanho, com mancha central escura e margem branca ou amarellada. Em baixo do cantho ha uma faixa escura que desce do foucinho até o olho, sendo mais larga na parte posterior. Abaixo desta ha outra branca, sinuosa, com ramificação diante do olho e, na margem do queixo, uma linha lateral escura sobre fundo branco. Nos lados da mandibula manchinhas escuras formam uma estria marginal.

Os lados do tronco são escuros com manchas glandulares brancas.

As pernas, marcadas com grande numero de manchas escuras, correndo em varias direcções, formam barras longitudinaes no femur e transversaes no resto das extremidades posteriores, apenas no lado dorsal. Metatarso e tarso escuros por baixo e brancos do lado exterior. Os braços variegados de escuro e claro.

Os dentes vomerinos formam dous arcos quasi contiguos, distinctamente por traz das choanas. Mandibula com um dente mediano, entrando n'uma cova do maxillar. Os olhos são muito approximados; a distancia entre elles é quasi egual á largura da palpebra superior.

LEPTODACTYLUS MYSTACEUS (SPIX).

Est. 32, figs. 6 e 7.

R. mystacea SPIX ex parte. *Cystignathus typhonius* DUM. & BIBR. ex parte, *Cystignathus poecilochilus* COPE.

Esta rã, embora frequente, muito espalhada e bem caracteristica, ficou geralmente confundida com outras especies, com as quaes tem alguns habitos e caracteres em commum, como sejam a voz sibilante, o risco preto em forma de bigode e o costume de viver muito escondida, as vezes longe da agua. Para obtel-a é geralmente necessario cavar a terra onde habita em buracos, ás vezes com duas sahidas. Nestes mesmos faz a criação, perto, mas não por dentro da agua, como HENSEL já descreveu para o *L. mystacinus*. Acham-se então em cavidades com as paredes perfeitamente lisas, provavelmente transformações de depressões naturaes ou buracos de camondongos. Os gyrinos maiores podem ser encontrados em cavidades contiguas que contêm agua; elles se dei-

xam criar facilmente até que a metamorphose permitta classifical-os. A caça destas rãs é muito difficil, porque cantam dentro ou perto dos buracos, escondendo-se immediatamente quando o caçador chega. A localisação da voz que sahe dos buracos, é muito difficil. Marcando-se o lugar onde cantam a noite, podem ser procurados de dia, nos buracos, sendo ás vezes preciso roçar primeiro. Apparecem tambem quando se faz trabalhos agricolas.

A voz destas rãs (e de mais duas ou tres especies) é um assobio curto e repetido soando como «*huit*» e que se attribuiria antes a um passaro do que a um batrachio. Difficilmente se distingue do assobio das outras especies, sendo preciso têr pratica e um bom ouvido para fazel-o. Cantam com frequencia durante a noite. Na região da Capital Federal existem em algumas baixadas, mais ou menos cultivadas, faltando em outras e principalmente nos lugares montanhosos onde a agua corre muito. Occorrem provavelmente em todos os estados do Brazil.

Pela coloração e o desenho distinguem-se facilmente do *L. typhonius* que tambem assobia. A estria preta, designada como bigode e que corre da ponta do foucinho, abaixo do cantho, e atravessa o olho, é bastante caracteristica, mas existe tambem em algumas outras especies. Nas costas ha uma prega glandular marginal, em parte branca, e uma linha coccygea branca que se continua na coxa, caracteres que faltam ao *mystacinus*. As extremidades apresentam faixas transversaes escuras e o dorso algumas manchas pouco accentuadas, sendo uma interocular. O fundo do dorso geralmente é olivaceo, mas, em condições ainda mal acertadas, pode apresentar um matiz avermelhado.

As larvas desta especie foram encontradas na matta numa poça de agua, que poucos dias depois ja tinha seccado. Os adultos assobiavam no secco a pouca distancia. Observei a transformação obtendo uma pequena rã nova. Numa segunda visita foram apanhados mais doze exemplares embaixo da terra. Logo depois da metamorphose o comprimento é de 15 mm. Os gyrinos eram acinzentados, mais claros que os de *ocellatus*, e com as linhas de pontos amarellos menos marcados.

LEPTODACTYLUS MYSTACINUS (BURMEISTER).

Est. 32, figs. 8 e 9.

Esta especie foi denominada por BURMEISTER em 1861 e minuciosamente descripta por HENSEL, debaixo do nome erroneo de *mystaceus*. Foi mais vezes confundida com outras ou considerada nova. MÉHELY deu uma chromolithographia de um macho conservado, em que estranho a côr do fundo dorsal. Pelo resto os caracteres combinam com a minha figura, tirada do vivo. HENSEL dá o comprimento de 42 mm., mas alcança 55 ou mais. A semelhança com sapo, indicada por HENSEL, cabe mais á parte posterior do corpo por serem as pernas relativamente curtas e grossas, mas falta na cabeça.

No lado dorsal o fundo é de côr variavel, amarello-olivaceo, um tanto bronzeado, pardacento ou mesmo avermelhado. O dorso é limitado por pregas glandulares lateraes inteiramente negras, faltando as submedianas. Ha estrias e papulas glandulares de côr preta nas costas e outras em forma de granulos transparentes, disseminados sobre o tronco e as extremidades. Nos lados nota-se manchas semiannulares pretas muito typicas. A face posterior das coxas é variegada e o lado de cima das extremidades mostra faixas escuras transversaes, como em outras especies. O lado ventral é quasi totalmente branco. O bigode é muito evidente. O

tympano é grande, pardo-escuro, com disco central mais escuro e uma tarja branca bem distincta.

Nos dedos do pé se nota, entre o lado dorsal e ventral, uma linha de demarcação apenas saliente. O tuberculo metatarsal exterior é bastante grande, o interior bem menor.

Os sexos não se distinguem morphologicamente.

Esta rã tambem assobia. Ouvido fora do buraco, o som parece mais metallico do que nas outras especies. Esconde-se em buracos tão grandes que não podem ser attribuidos a seu trabalho só. Os habitos são exclusivamente terrestres. A oviposição é feita em buracos, como no *mystaceus*.

A especie é evidentemente muito espalhada, da Argentina até a Venezuela segundo NIEDEN. Parece-me comtudo um pouco mais rara do que o *mystaceus* e o *typhonius*. Pessoalmente não consegui achal-a na Venezuela.

LEPTODACTYLUS RHODOMYSTAX BOULENGER.

Est. 32, fig. 13.

Esta especie foi baseada sobre um *Leptodactylus* muito novo, com 25 mm. de comprimento, apanhado em Yurimaguas, nordeste de Perú. Mais tarde LORENZ MUELLER descreveu dois exemplares do Pará, um novo de 20 e um macho adulto de 68 mm. RUTHVEN assignalou exemplares da Guiana Ingleza, mas NOBLE declara que se trata de exemplares novos de *L. pentadactylus*. Na mesma occasião elle descreve de Kartaabo na Guiana Ingleza um macho adulto, bastante semelhante, com 56 mm. de comprimento que denominou *L. stictigularis*. Tenho tambem um macho, não completamente adulto, apanhado na Bahia, observado em meu laboratorio e representado em côres naturaes; mede cerca de 55 mm.

O que ha de commum em todas estas observações, é tratar-se de uma especie, bastante grande em estado adulto, que se distingue por uma côr rosea ou avermelhada das costas e uma fita rosada submarginal na mandibula. Existem pregas lateraes glandulares e a face posterior das coxas é escura com manchas claras. A face ventral não é completamente branca, mas salpicada de escuro em maior ou menor extensão, mas principalmente na margem maxillar, na *gula* e no peito. No meu exemplar esta pigmentação se limita ás margens da maxilla, ventre e duas zonas lateraes na *gula*, mas no *stictiigularis* é mais intensa e muito mais extensa. O que os auctores não salientam é a grande similhança com o *Leptodactylus mystaceus* que noto no meu exemplar chegando até ao ponto de fazer duvidar da dualidade destas especies. Ha comtudo demais differenças, embora menores, em meu exemplar, além da coloração e da diversidade de tamanho, para negar que se trate de duas especies, embora visinhas, das quaes a maior parece mais localisada no norte. Talvez o *stictigularis* represente uma terceira especie, mas estas questões só poderão ser decididas com o estudo de mais material e, se fôr possivel, a comparação dos typos.

Joaquim Venancio, empregado de meu laboratorio, que apanhou o *rhodomystax*, compara a sua voz com o piar do *inhambú* no principio do seu canto.

LEPTODACTYLUS TROGLODYTES n. sp.

Est. 32, fig 12.

Femea adulta de 50 mm. de comprimento longitudinal do tronco. Apanhada pelo Dr. CONRADO GUENTHER de Friburgo em casa de saúva e dado em Maio de 1924. Procedencia: Pernambuco.

Coloração: Fundo branco, mais ou menos misturado com pardacento, e desenhos côr de chocolate (no exemplar conservado em alcohol).

Parte anterior da cabeça fazendo, acima da bocca, uma saliencia obliqua arredondada. Canthus rostral obtuso e região loreal um tanto excavada. Tympano mais largo do que alto, quasi do tamanho do olho, mostrando no centro um ponto branco no meio de um circulo pardo, a margem preta, a parte intermediaria pardacenta. Por cima e por traz do tympano ha uma prega semilunar um tanto saliente, de côr preta. Espaço interorbital obliquo, pouco largo. Mandibula com cova mediana recebendo um dente da maxilla. Ventre com disco circular. Lingua ovalar, livre por traz. Dentes vomerinos em duas series, ligeiramente convexas e pouco separadas, collocadas em eixo transversal, logo atraz das choanas que são bastante grandes. Pelle lisa em cima e em baixo, granular apenas na face ventral das coxas. Faltam glandulas maiores ou bem accusadas. O ventre têm um disco e está cheio de ovos branco-amarellados de 1—2 mm. de diametro. A perna de traz, applicada ao tronco, alcança com a articulação tibio-tarsal pouco além do olho.

Na cabeça ha uma mancha subcuneiforme mediana com a base entre os olhos e a ponta pouco para traz do nivel das narinas. Um pouco em frente d'estas, ha de cada lado, uma estria escura, composta de manchas em serie, que passa sobre as narinas e a região frenal e se continua em forma de traço fino, abaixo do olho, alargando-se depois entre este e o tympano. Uma parte continua em forma de tarja larga e irregular do lado superior e posterior do tympano; outra forma duas pequenas manchas insulares successivas e mais para dentro. Abaixo da parte anterior do olho ha uma mancha escura subrhombica que se dirige obliquamente para a margem mandibular que, no resto, é clara ou apenas ligeiramente ennegrecida. Entre a metade posterior das palpebras e invadindo a direita ha uma mancha em forma de W cheio com as duas pontas viradas para traz. Ha mais duas manchas maiores sobre as vertebras e processos transversaes e por traz destas varias pequenas que se estendem até á prega anal. As zonas lateraes são pardacentas e contêm uma estria longitudinal, formada por pequenas manchas esbranquiçadas. Os membros em cima com faixas transversaes escuras. Face interna das coxas com fundo escuro, salpicado de branco na parte proximal. Existe uma prega discoidal.

Mãos com tuberculos subarticulares e tuberculos palmares bem desenvolvidos, podendo servir para cavar. Dedos afilados e bastante curtos; o primeiro bem mais longo do que o segundo. Dedos do pé sem membrana lateral ou interdigital distincta; 2 tuberculos metatarsaes moderadamente desenvolvidos. Não ha tuberculo tarsal.

O exemplar parece relativamente grosso e largo, devido em parte ao desenvolvimento dos ovarios.

LEPTODACTYLUS NANUS MUELER. LER.

Est. 32, figs. 10 e 11.

Esta especie, obtida do Paraná por LORENZ MUELLER, não é francamente aquatica, mas esconde-se debaixo da terra ou da vegetação depois de seccarem as aguas superficiaes, em que se criou. É bastante espalhada, mas passa facilmente desapercebida.

A descripção original é muito detalhada e combina bem com os meus exemplares, aliás reconhecidos por MUELLER. Nos exemplares vivos, machos e femeas, acho o tom geral quasi sempre um tanto ferrugineo; tambem a pelle ventral pellucida se torna ligeiramente encarnada. A mancha escura da

nuca contêm alveolos da côr do fundo e a mancha em forma de Lambda abraça um espaço da côr da linha vertebral clara que se percebe bem na metade posterior do dorso. Acho a distancia interocular maior do que a largura da palpebra superior approximando-se mais da longura. A tibia tem mais ou menos o comprimento da cabeça, não da cabeça e do tronco como está indicado no texto de MUELLER por erro casual.

Os ovos, relativamente grandes, apparecem atravez da pelle abdominal em côr crême, sem parte preta.

A voz nunca foi ouvida distinctamente.

O comprimento pode alcançar 25 mm. desde da ponta do foucinho até á prega anal.

Temos varios exemplares de tres lugares: *Nictheroy, Campo Bello* e *Angra dos Reis* e outros isolados de mais alguns pontos. Parecem preferir as regiões um pouco accidentadas.

LEPTODACTYLUS TRIVITTATUS n. sp.

Est. 32, figs. 14 e 15.

Esta especie é, sem duvida, muito visinha do *L. nanus* no tamanho e na biologia, mas as differenças tanto do desenho como da coloração, e a falta de transição não permitte reunil-as. Foi encontrada nas mesmas regiões, mas em pontos differentes. O *trivittatus*, observado vivo, mostra muita tendencia a esconder-se durante o dia.

A femea adulta mede cerca de 22 mm. em comprimento. A lingua é livre por traz e os dentes vomerinos formam dois pequenos grupos rectilineos com pequeno intervallo.

No dorso do tronco ha tres estrias longitudinaes de côr terracotta ou um pouco mais vermelhos. A dorsomediana limita-se á metade posterior do dorso. As lateraes principiam sobre a palpebra superior e terminam pouco antes da prega inguinal. Nos ultimos 4 mm. a côr avermelhada vira em crême. A mesma côr apparece numa fita sinuosa que principia abaixo do olho e acaba na raiz do braço. Passando por baixo do tympano, torna-se mais estreita. A côr terracotta apparece tambem no lado dorsal do cotovello e joelho, extendendo-se sobre as partes visinhas. Num exemplar menor a estria mediana invade tambem a metade anterior do dorso tornando-se mais fina e interrompida.

Tenho um exemplar do *Alto da Serra de Cubatão* e alguns de *Campo Bello*, encontrados dous debaixo de troncos de arvores derrubadas e os outros no capim. Não se conhece a voz.

LEPTODACTYLUS CALIGINOSUS GIRARD.

L. caliginosus que só conheço de exemplares da Guyana Ingleza (1) recebidos em troca do *Am. Mus. of Nat. Hist.*, foi observado na Bahia, em Pernambuco e Matto Grosso, tambem na America Central e até no Mexico. Assim teria uma distribuição muito vasta, si não se tratar de mais de uma especie, de que ha alguma probabilidade. O meu exemplar tem todos os caracteres de *Leptodactylus*, mas a membrana marginal dos dedos (que BERG dá com um caracter distinctivo) chama pouco a attenção, ao contrario do que se dá com certos exemplares de *Crossodactylus Gaudichaudii* que foi erroneamente transferido para *Leptodactylus*. A falta de pregas glandulares longitudinaes, usada na chave de BERG, verifica-se tambem no meu exemplar. A pigmentação do lado ventral distingue esta especie de todos os meus *Leptodactylus*, menos alguns exemplares de *ocellatus*. Talvez o *L. brevipes*, descripto do *Matto Grosso*

(1) Exemplares semelhantes encontrei posteriormente em *Ocumar de la Costa (Venezuela)*. O macho tem osbraços espessados e 2 tuberculos corneos pretos no primeiro dedo. A pigmentação de lado ventral é variavel

por COPE em 1887 possa ser considerado equivalente de nosso *caliginosus*.

LEPTODACTYLUS LONGIROSTRIS BOULENGER.

Est. 33, figs. 4, 4a e 4b.

Creio que esta especie foi achada apenas uma vez, em Santarém. Parece-me approximar-se de *mystaceus* e *mystacinus*. BAUMANN pensa ter encontrado a mesma especie em matérial da *Serra* dos *Orgãos*, mas os seus exemplares não combinam bem com a descripção de BOULENGER e por isso pode-se excluir que esta espécie, um tanto duvidosa é só conhecida das margens do Amazonas, occorra tambem nas montanhas do Rio de Janeiro.

Para comparações desejadas dou uma reproducção da figura de BOULENGER.

LEPTODACTYLUS PROGNATHUS BOULENGER, 1888.

Est. 35, figs. 1 a 4.

A especie *prognathus*, baseada sobre um exemplar semiadulto do estado do *Rio Grande do Sul*, foi observado tambem no *Paraguay*, *Uruguay* e na *Republica Argentina*. Segundo os FERNANDES deve ser commum perto de *La Plata* porque o seu canto que soa como «pinc, pinc» é ouvido em toda parte. Estes autores, dos quaes recebi um ou ambos os meus exemplares, estudáram a especie e seu desenvolvimento. O comprimento indicado é 33 mm., mas o meu exemplar maior tem 36—37. Assim é menor que todas as outras especies com excepção de *nanus* e *trivittatus*. Tem a cabeça allongada com o foucinho saliente; no dorso ha duas pregas glandulares lateraes, além de umas manchas escuras, das quaes uma interocular. O ventre, com disco bem accentuado, não mostra pigmentação escura. Os dedos dos pés sem indicio de membrana lateral ou basal. O macho não pode ser confundido por ter por dentro dos ramos maxillares duas fendas escuras que indicam a existencia de saccos vocaes.

Dou a photographia dos meus exemplares que já estavam conservados bastante tempo. O maior é um macho adulto, o menor é uma femea semiadulta.

LEPTODACTYLUS PUSTULATUS (PETERS).

Est. 35, figs. 5 e 6.

Debaixo do nome *Entomoglossus pustulatus* PETERS descreveu um novo batrachio do *Ceará* de 46 mm. de comprimento e com a lingua cordiforme. Este caracter não exclue o genero *Leptodactylus*, em que foi collocado por BOULENGER.

Tenho um exemplar semiadulto da Bahia que se parece bastante com um *Crossodactylus*, mas os dedos pontudos e os dentes vomerinos indicam o genero *Leptodactylus*. Tem a lingua bem chanfrada posteriormente e combina geralmente com a descripção de PETERS. Apenas acho o lado ventral claro com vermiculações escuras, em vez de apresentar numerosas manchas redondas e branco-amarelladas. Não posso filiar meu exemplar a outra especie conhecida e a procedencia falla em favor de collocal-o, pelo menos provisoriamente, na especie de PETERS que parece não ter sido reencontrada.

Rio, em 15 de Abril de 1925.

——

ADDITAMENTO.

Numa estampa não colorida (Est. 37) junto ainda reproducções de duas especies de *Leptodactylus* que estudei na Venezuela e que podem ainda ser

encontradas em territorio brazileiro. Ambas são bôas especies, embora pouco conhecidas.

LEPTODACTYLUS BOLIVIANUS BOULENGER.

Est. 37, figs. 1 e 2.

Os exemplares descriptos vieram da Bolivia, mas a especie é commum na Venezuela e recebi um exemplar já determinado do Panamá, dado pelo Museo Americano, o que prova que a especie é bem espalhada. A primeira descripção é pouco accessivel, mas pode ser consultada a traducção na monographia de NIEDEN, pg. 482.

L. bolivianus distingue-se do *ocellatus,* com que pode ser confundido a primeira vista, por ter nas costas apenas duas cristas glandulares marginaes faltando as submedianas. Podem ser cobertas ou ladeadas de uma listra preta. O dorso é tambem verde-garrafa ou olivaceo com manchas negras, irregulares e em numero variavel. Existem geralmente uma mancha subtriangular na nuca e uma interscapular, fenestrada ou dividida, e barras transversaes no dorso das extremidades. O lado inferior pode ser pontilhado ou salpicado de preto, principalmente no macho. Este nunca attinge o tamanho extraordinario, observado em machos de *ocellatus,* mas tambem tem os braços espessados e, em tempo de cio, uma escova nupcial terminal e outra lateral no rudimento do pollegar. A femea alcança o mesmo tamanho, mas se distingue pelos braços finos. Ambos os sexos podem mostrar no dorso verrugas glandulares alongadas. A face inferior das cochas é granulosa, os dedos das mãos e dos pés têm cristas lateraes pouco elevadas e tambem nos outros caracteres esta especie se approxima muito do *ocellatus*, que parece substituir.

A voz nunca foi ouvida, mas deve se parecer com a do *L. ocellatus,* a julgar por uma observação de ROBINSON que provavelmente se refere ao *bolivianus* e não ao *ocellatus* cuja existencia no littoral de Venezuela é muito problematica.

O comprimento indicado por BOULENGER (105 mm.) é excepcional. O maior numero de exemplares não alcança 80 mm.

LEPTODACTYLUS DIPTYX BOULENGER (nec diptyx BOETTGER).

Est. 37. figs. 3 e 4.

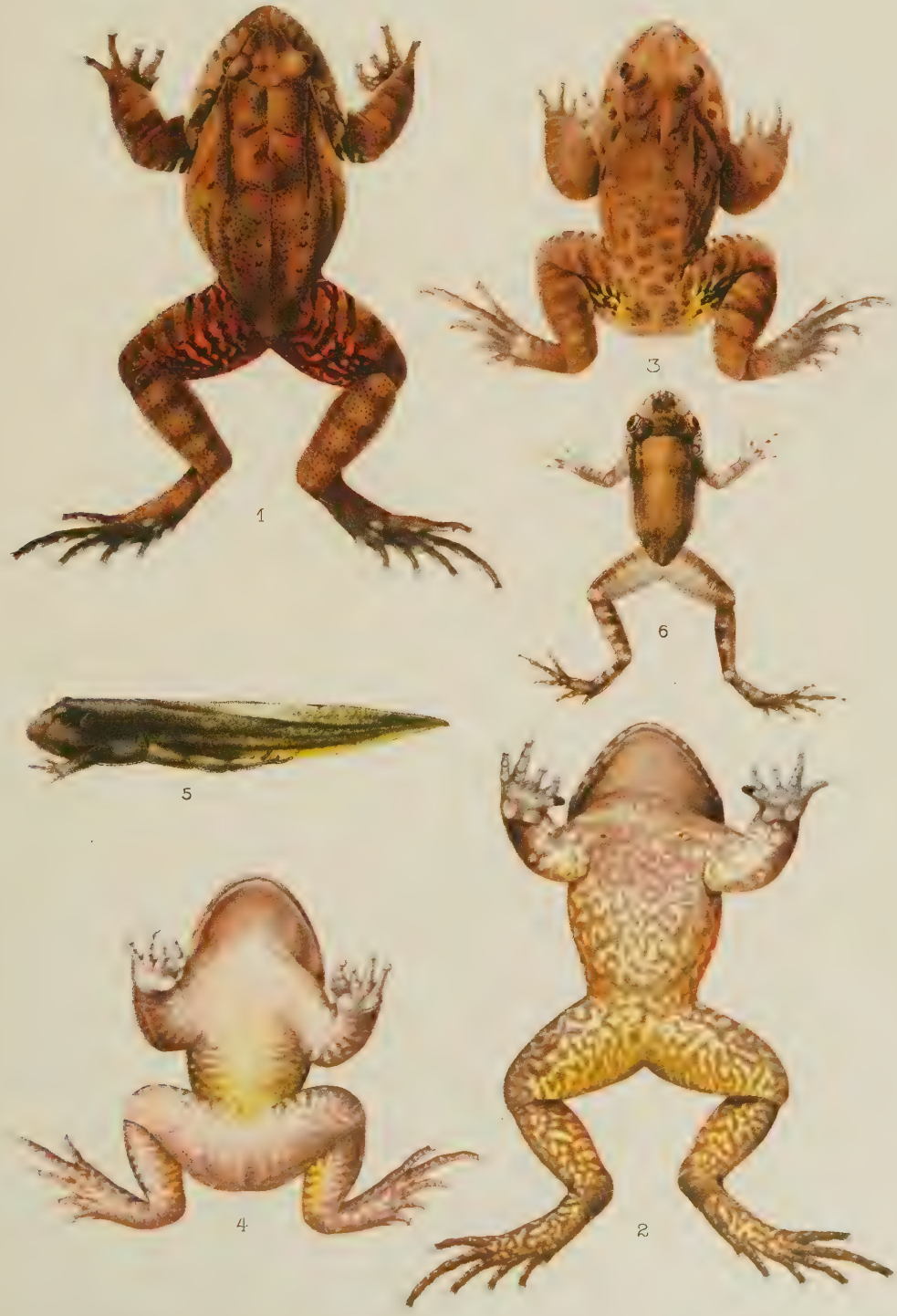
A descripção, tirada de um só exemplar com indicação de localidade: *Andes de Venezuela,* appareceu em: *The Annals .... of Nat. Hist., 1918, ser. 9, vol. 2, p. 431.* O comprimento indicado é 44 mm., mas os meus adultos dos dous sexos medem de 37 a 40 mm.

Leptodactylus diptychus não é tão commum como *L. bolivianus* e vive mais escondido, mas é bastante espalhado sendo que á noite a sua voz caracteristica (intermediaria entre coaxar e assobiar) é ouvida com frequencia. Costuma conservar-se em buracos na margem da agua.

Os machos não mostram escovas nupciaes, nem espessamento dos braços, mas conhecem-se por duas manchas pigmentadas, occupando as regiões lateraes da *gula* e correspondendo aos saccos vocaes.

Os dentes vomerinos formam por traz das choanas dous crescentes com convexidade anterior. O foucinho é muito saliente em cima e retrocede em baixo, como no *prognathus* do qual se approxima. O dorso tem o fundo pardo acinzentado com manchas irregulares escuras e quasi sempre uma mais clara na linha vertebral. O *canthus rostralis* arredondado é indicado por uma estria escura pouco distincta. Ha de cada lado uma pequena dobra acima do tympano e uma crista glandular retroocular e dorsomarginal de côr mais clara. Sobre os lados do corpo ha

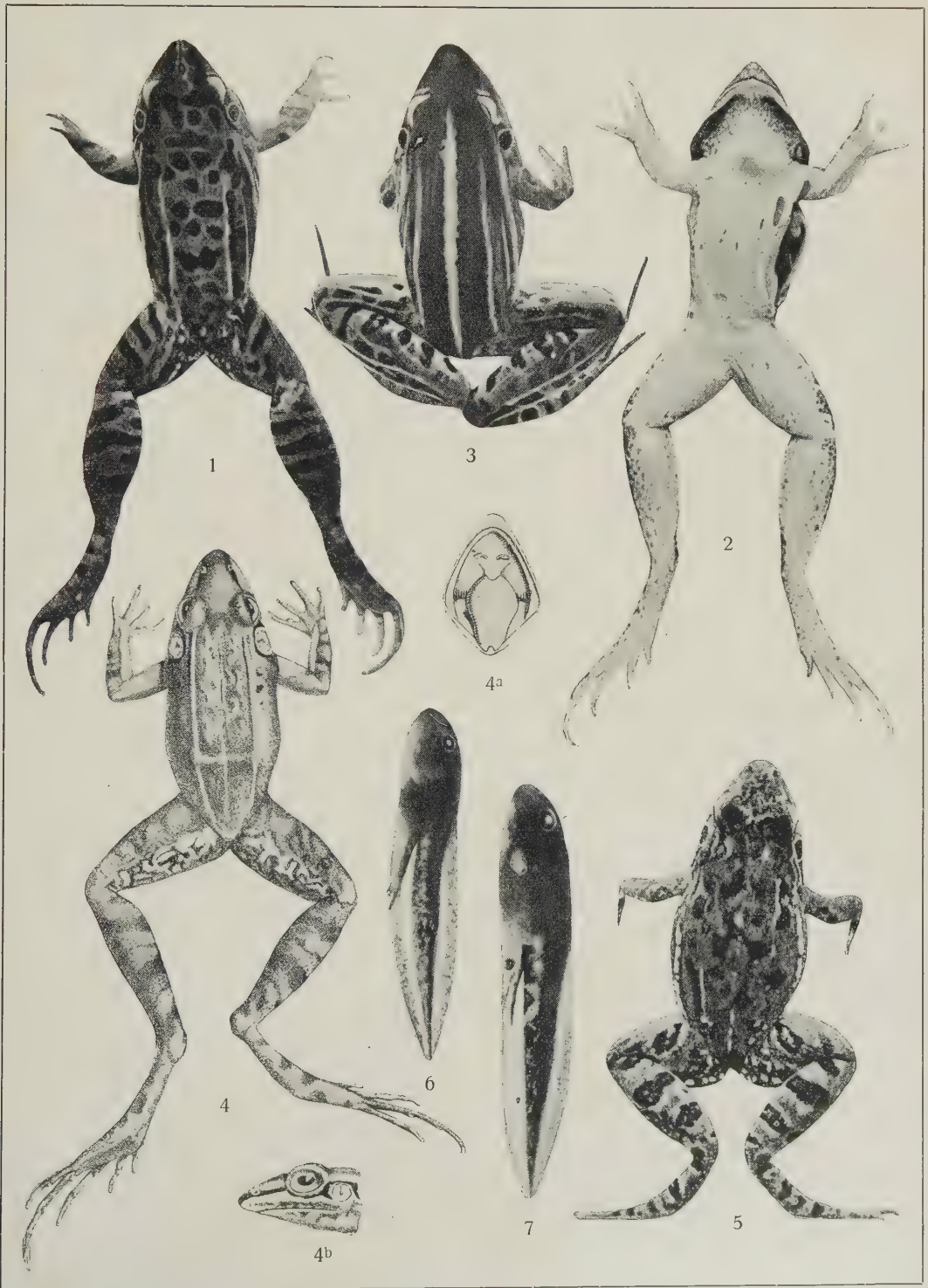
verrugas glandulares formando estrias com interrupções largas. Lado dorsal das pernas com faixas transversaes escuras e pontos glandulares disseminados, de côr branca. Ha tambem no lado interno das coxas uma linha clara, tarjada de escuro. O lado ventral do corpo é branco.

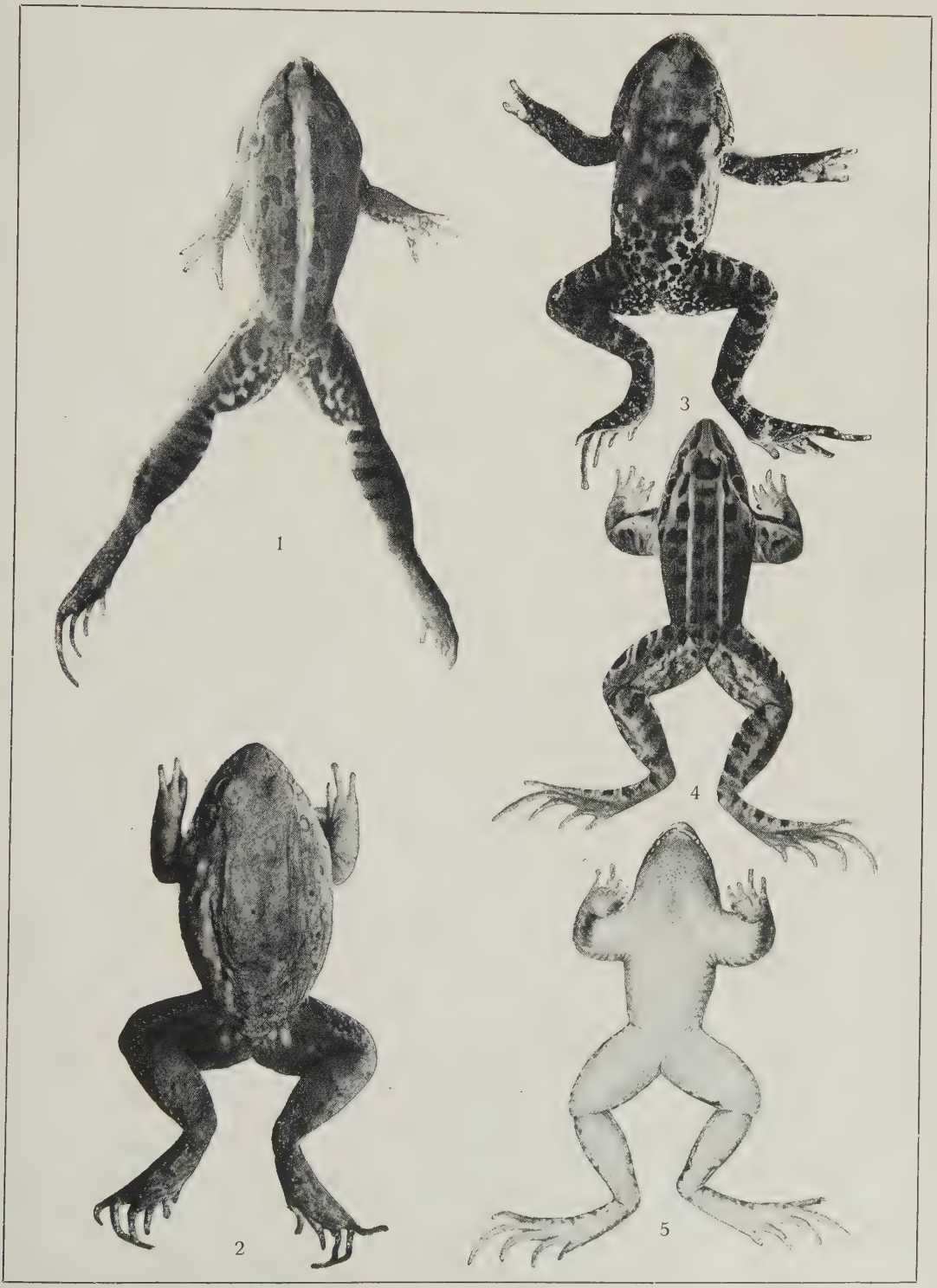


P. SANDIG. DEL

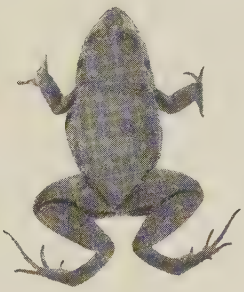
P. SANDIG. DEL

P. SANDIG. DEL


1
3
2
4a
4
6
7
5
4b


1
2
3
4
5

1



3

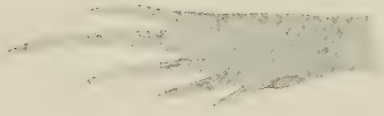
2

4

5

6

2



1.a

1

1

4

3

2

EXPLICAÇÃO DAS ESTAMPAS 30—37

Esstampa 30.

Figs. 1 e 2. Macho adulto de *Leptodactylus pentadactylus*, visto de cima e de baixo. 1/4 de tamanho natural.
Figs. 5 e 6. Larva adulta e rã apenas transformada. Tamanho natural.
Figs. 3 e 4. Macho adulto de *Leptodactylus ? gigas* SPIX. 1/4 de tamanho nat.

Estampa 31.

Figs. 1 e 2. Femea adulta de *L. ? gigas*. 1/4 de tamanho natural.
Figs. 3 e 4. *Leptodactylus ocellatus*. Macho enorme e muito escuro. 1/4 de tamanho natural.
Figs. 5 e 6. *Leptodactylus flavopictus* n. sp. 1/4 de tamanho natural. Femea adulta.

Estampa 32.

Figs. 1 e 2. Macho adulto de *L. typhonius*. 1/2 de tamanho natural.
Fig. 3. Cabeça do mesmo vista de lado.
Figs. 4 e 5. *L. gracilis* apenas transformado. 1/2 de tamanho natural.
Figs. 6 e 7. *L. mystaceus* adulto. 1/2 de tamanho natural.
Figs. 8 e 9. *L. mystacinus* adulto. 1/2 de tamanho natural.
Figs. 10 e 11. *L. nanus* L. MUELLER, macho e femea, adultos. Tamanho natural.
Fig. 12. *L. troglodytes* n. sp. Femea adulta. 1/2 de tamanho natural.
Fig. 13. *L. rhodomystax* BOULENGER (?). Adulto. 1/2 de tamanho natural.
Figs. 14 e 15. *L. trivittatus* n. sp. Ex. muito novo. Tamanho natural.

Estampa 33.

Figs. 1 e 2. *L. typhonius*, macho adulto, visto de cima e de baixo. Phot. origin. em tam. nat.
Fig. 3 *L. gracilis* adulto com listra vertebral branca. Tam. nat. Copiado de uma figura dos FERNANDES.
Figs. 4, 4a e 4b. *L. longirostris*, reproduz do original de BOULENGER.
Fig. 5. *L. prognathus* adulto.
Fig. 6. *L. gracilis*, gyrino em metamorphose.
Fig. 7. *L. ocellatus* gyrino em metamorphose.
As figuras 5—7 foram tiradas da publicação de K. e M. FERNANDES.

Estampa 34.

Fig. 1. *L. typhonius* adulto com listra vertebral branca, achado em *Bello Horizonte*. Tam. nat.
Figs. 2 e 3. *L. pentadactylus* (da *Bahia*). Exemplares meio adultos, mostrando 2 o typo unicolor e 3 o typo variegado. 1/2 tamanho natural.
Figs. 4 e 5. Macho de *L. ocellatus*. 4 de cima mostra 2 listras brancas sendo as cristas glandulares pouco visiveis; 5 aspecto ventral com fraca pigmentação. 1/2 tam. nat.

Estampa 35.

Figs. 1 e 2. *L. prognathus*. Macho bastante grande.
Figs. 3 e 4. Femea nova.
Figs. 5 e 6. *L. (Entomoglossus) pustulatus* PETERS. Exemplar novo (?).

Estampa 36.

Fig. 1. *Leptodactylus bufo* ANDERSSON. Macho (de ponta Grossa).
Fig. 1a. Pé do mesmo.
Fig. 2. *L. pentadactylus* do mesmo tamanho para comparação.

A photographia da figura original de ANDERSSON e do meu exemplar foram reduzidas na mesma proporção (pouco mais de um terço).

Estampa 37.

Figs. 1 e 2. *L. bolivianus*, macho ad. 1/2 tam. nat.
Figs. 3 e 4. *L. diptychus* macho ad. Tam. nat.

Novas publicações sobre especies brasileiras de Leptodactylus.

FERNANDES, K. & M. — Sobre la Biologia e Reproduccion de algunos Batrachios Argentinos. I. Cystignathidae. Anales de la Sociedad Cientifica Argentina, tomo XCI, pag. 97 y sig., 1921. Buenos Aires.—Coni.

LORENZ MUELLER, — Froschlurche v. S. Catharina. Bl. f. Aquarien—u. Terrarienk. Jhrg. 33, n. 11, pg. 168, 1922. (L. nanus).

LORENZ MUELLER, — Neue oder seltene Rept. und Batr., Zoolog Anz., Bd. 57 n. 1—2, pg. 41, 1923. (L andreae).

Observations on brazilian batrachians

by

ADOLPHO LUTZ, M. D.,

Chief of Section of Medical Zoology.

Part I: The genus Leptodactylus.

(With Plates 30—37).

PREFACE

The first inducement to my studies on our batrachians came during other researches by the observation of several striking and apparently unknown tadpoles. To determine them I had to obtain first the adults, but even so it proved very difficult to find the correct names, because the species already described were very numerous and the characters, taken from dead and often very old specimens did not agree well with the living animals. Though SPIX published many colored drawings of brazilian frogs and toads, I soon perceived that the colors were quite phantastical and the descriptions mostly insufficient. The still existing types are in a bad state and the account given of them by PETERS refers to a rather small number of mostly common and easily recognised species. The descriptions of BOULENGER, GUENTHER and many other authors give mostly morphological caracters and proportions, altogether insufficient for the distinction of many closely allied species. Drawn mostly from dead specimens they often convey a quite wrong idea of the colours observed during life and the dimensions mostly refer to one specimen only, when they are not wanting altogether. There exist however excellent drawings which are of great help, but their number is very small when compared to more than 150, perhaps 200 brazilian species.

Some of the characters belonging mainly to the male are in relation with the period of propagation and ought not to be employed for distinguishing genera and species, as has been done.

Many species show permanent variations in some individuals while those of others may change in colour and marking so that many specimens look alike one day while the next they seem to belong to two or three different species. This explains how in the very large and scattered litterature the same species may bear several names while others, though quite distinct, have been bunched together under one name only.

I very soon concluded that in order to get a good knowledge of our frogs several individuals ought to be observed and their typical aspect fixed, while alive, in their natural colors which get lost soon after death.

Having gathered in a rather short time a goodly number of living or well preserved specimens, I thought it might be good to include an atlas of our indigenous species in the publications for the centennial commemoration of national independence. So I arranged with Prof. BRUNO LOBO, then director of the Museu Nacional, to supply the necessary material to an artist engaged by him. After some time of satisfactory progress, the work stopped because of exhaustion of the funds for publication but the collection in our institute went on and contains now about a hundred already known brasilian species and about thirty apparently new ones, which were shown and summarily described in the *Société biologique* of *Rio de Janeiro*. More aquarelles were paid for by our institute while several species were photographed, so that now any fresh specimens may be easily compared.

As it was impossible to publish the whole atlas at once, I chose for the first instalment the genus *Leptodactylus* which contains our best known frog. Later on I hope to publish the other new species in good aquarelles and afterwards discuss the species already more or less known.

Pictures and photographs with the accompanying notes ought to be sufficient for recognizing the specimens of *Leptodactylus* found in our best known territories. I refrain from reproducing in detail the former descriptions which may be found in the monograph of NIEDEN. *(Tierreich, Vol. 46, Anura I)* containing our knowledge of the *Batrachia aglossa et arcifera* and all the bibliographical indications up to the end of 1914. The papers since published on brazilian species are few and will be cited when referred to.

THE BRAZILIAN SPECIES OF THE GENUS LEPTODACTYLUS

The *Leptodactylidae* ressemble the the frogs of the old world but are *arcisternia* and have quite a different geographical distribution. The main genus *(Leptodactylus* or *Cystignathus)* is characterized by a sternum with bony style, vomerine teeth behind the choanae, fingers and toes without discs and interdigital membranes, rather long toes, sometimes with lateral ridges or sutures and united last metatarsals. The pupil is horizontal, the tongue free behind and the tympanum quite distinct. A more or less distinct discoidal fold seems constant in the true species. The prevalent appearance is that of frogs with legs fit for jumping. The snout is often pointed and prominent, principally in the males. The first toe longer than the second and a median prominence on the maxillary ridge are commonly found.

Groundcolor on the upper side brown, bronze or olive, sometimes partly red, often with darker glandular spots or stripes; below pure or yellowish white, often with blackish brown spots.

The males, of the larger species only, have the arms thickened and nuptial excrescences on side and apex of rudiment of thumb, in one species on the breast too.

Many species are decidedly aquatic but some are terrestrial and conceal themselves in holes in the earth. The first ones, to the extent of our knowledge, lay their eggs in the water, forming masses surrounded by foam and often guarded by the mother, while the terrestrial species lay them in holes without contact with open water, though the tadpoles later on are found in it. KATE and MIGUEL FERNANDES published observations on various species which I have confirmed independently for several of them. The tadpoles seem to grow rapidly and, when beginning to transform, are rather big and generally dark. The tail is long and may still persist while the characters of the last stage are already appearing.

The species, cited by NIEDEN, with some new ones, described by LORENZ MUELLER and myself, average twenty. Some of them are little known and rare, others may be excluded as synonyms or not belonging to the genus, so that the number of good and well defined indigenous species will not be much above fifteen.

Key to the brazilian species of Leptodactylus observed by me.

1. Very large and stout forms with big head. Males, so far as known, with thickened arms and nuptial excrescences on rudiment of thumb. Aquatic and crepuscular.

Both sexes with ornamental coloration on groin and thighs.
Groin and thigh with black spots on red ground..... *pentadactylus*
The same with black spots on yellow ground:
Upper side olive with larger dark spots..... *gigas*
Upper side brown without larger spots but the members with dark crossbands..... *flavopictus*

B. Without ornamental red or yellow coloration but with dark spots and glandular folds on the olive or bronzecolored back..... *ocellatus*

2. Species with long snouts alike to *ocellatus* in color and glandular folds but much smaller:

Dark spot on nape nearly or quite divided, glandular folds dark; a white longitudinal line on inside of femur. Male with external vocal sacs. Terrestrial. Voice a whistle:..... *typhonius*
Smaller and slenderer. Glandular folds partly white or yellowish. Half terestrial. Voice not a whistle:..... *gracilis*

3. Smaller species, whistling and hiding in holes. No dorsomedian folds with dark spots between. Names allude to dark stripe on upper lip, compared with a mustache.

Dorsomarginal glandular folds:..... *mystaceus*
No dorsomarginal folds:..... *mystacinus*

4. Species in size like anterior group. Habits not well known, probably terrestrial. Rather rare:

Back and superlabial stripe reddish. Ressembles *mystaceus*: *rhodomystax*
No such characters. Back with dark spots on light ground:. *troglodytes*

5. Very small, terrestrial and mostly hidden:

Back with terracotta colored bands, one median and one on margin of each side..... *trivittatus*
Bands absent or hardly indicated. A large alveolar spot on nape:..... *nanus*

The following species were not included for want of good indigenous specimens:

Leptodactylus andreae LORENZ MUELLER, *brevipes* COPE, *bufo* ANDERSSON, *caliginosus* GIRARD, *diptyx* BOETTGER, *hylaedactylus* COPE, *longirostris* and *prognathus* BOULENGER, *pustulatus* PETERS. With exception of *andreae*, all must be reexamined and compared. *Gaudichaudii* is no *Leptodactylus*, neither *rhodostigma* nor perhaps *discolor*. *L. andreae* comes close to *nanus* but is rather smaller and only known from the Amazon region. The male is distinguished by external vocal sacs.

THE BIG SPECIES OF LEPTODACTYLUS.

The name *Rana pentadactyla* LAURENT was given to a southamerican frog, easily recognised by its bulk, its coloring and the nuptial characters of the male. The names *labyrinthica, coriacea* and *gigas*, all given by SPIX, are considered synonyms by PETERS, but I presume that the last name might apply to another large species I brought from northern Brazil. Though the type still exists, according to LORENZ MUELLER, it is not fit for deciding the question. We must not forget that the most striking colors may disappear in time. I also observed a female of a third, clearly different species and named it *L. flavopictus*. There are other species of this group, apparently not found in Brazil.

There is also the *L. bufo* of ANDERSSON but I think it belongs to *pentadactylus*, as this somewhat variable species includes rather similar specimens supposing that the red color had faded. It is true that *pentadactylus* has generally blunt finger tips but this seems due to a kind of wearing which may not be a constant feature while no big *Leptodactylus* has fingers as pointed as ANDERSSON's figure shows, apparently due to conditions of conservation.

The big species of *Leptodactylus* have the ventral surface light, more or less covered with dark spots, which, though somewhat variable, help to distinguish the species. They may also fade to a certain extent.

The biology of two of the species is not well enough known to help in the distinction. The first and third species occurred in the same region but the second was found alone.

LEPTODACTYLUS PENTADACTYLUS LAURENT.

Plate 30, figs. 1, 2, 5 and 6; plate 34, figs. 2 and 3; plate 36, figs. 1 and 2.

Syn.: *Rana labyrinthica and coriacea* SPIX.

The adults are easily recognised by their extraordinary bulk, the broad and flat head with wide mouth and the coloration of the different regions, as seen in the plates. A length of 16 cm. and a weight of 850 grammes was observed, but generally this does not exceed 500 grammes.

The upper side is brown varying from coffee with milk colour to cinnamon and chestnut, with or without darker spots, which may form crossbars on the limbs. The under side is light with irregular dark spots forming a labyrinth. The parts which are covered by the folding of the legs have the ground bright salmon-colored merging into vermillion and marked with black design. Though this characteristic ornamentation is not yet seen during

metamorphosis, it shows already in rather small specimens. In some individuals it appears also in the axillary regions. The red may verge into the white of the ventral side by a lemon-colored zone of varying breadth, but it has never been known to fade in live specimens.

The upper lip is marked by dark vertical bands, very much larger than the light ones between them, a character which may appear first during metamorphosis.

The mental region may be almost entirely black with only small light spots. Two, more or less complete, glandular folds extend from the interocular region to the end of the trunk, separating the sides from the back.

Rather large glands may be seen or felt in the lateral regions, but can not justify the inclusion of this quite different species in the genus *Pleurodema,* done by GUENTHER.

The sides of the head and the body, principally in its fore and upper part, also the inner and under side of the thighs are distinctly granular. The discoidal fold on the ventral side is fine but evident.

The iris is bronze-colored, yellow or, mostly in its under half, coppery. A black bar may separate the two halves. The pupil is oval, broader than high. In the middle of the inferior, sometimes also of the superior margin, a small black line gives the impression of a partial coloboma.

The tympanum, 2/3 of the diameter of the eye, has a central lighter area which may extend upwards.

The adult males show much thickening of the arms, the thumb rudiment well developped with horny incrustations on side and end. The chest shows on each side two or three papillae close together, covered with a horny layer which may be quite black. They are only indicated outside of the period of sexual activity.

As might be guessed from the size of their mouth, these frogs devour larger animals. Adults may easily swallow a chick or a big frog. Their general appearance is more toadlike and they have an abundant cutaneous secretion which makes them very slippery. It is rather caustic but not highly toxic.

This species is widely spread in the tropical part of Brazil but becomes rarer and finally disappears more to the south. I have not found it near *Rio de Janeiro.* Generally we obtained only isolated specimens but from *Bahia* and *Bello Horizonte* we got many. In the latter place we found also the tadpoles and observed the transformation. The vulgar name of this species is «*gia*».

There is undoubtedly a good deal of variability in this species but the extremes of design and coloring are found in specimens from the same place, nor might they be considered as sex distinctions.

LEPTODACTYLUS GIGAS SPIX (?)

Plate 30, figs. 3 and 4; plate 31, figs. 1 and 2.

SPIX distinguished from the *Rana labyrinthica* corresponding to *L. pentadactylus* a *Rana gigas* and this might well be referred to another practically unknown northern species, the size of which justifies the name. Of this species I obtained three individuals at night at the margin of a pond near *Independencia.* The drawings were made from dead specimens but these had been observed quite a while alive and were undoubtedly different from the other known species. Upper and lower sides are quite different from *pentadactylus* and, where this frog has a red ground, in *gigas* it is yellow as in *flavopictus* which however is quite different. The material does not permit to decide which species may be longer, but *gigas* seems to attain more breadth. No pa-

pillae were observed on the chest of the male.

Unfortunately I have not been able to obtain more material, though this frog ought not to be rare in the region where it was caught.

LEPTODACTYLUS FLAVOPICTUS n. sp.

Plate 31, figs. 5 and 6.

Of this species I only know one specimen, apparently female, but this was perfect and has been observed and painted while alive. As clearly seen, it occupies a place between *pentadactylus* and *gigas*, being different from both. Nor might it be the *P. bufo* of ANDERSSON which is more like *pentadactylus*. The dorsal aspect of *flavopictus* is not unlike *pentadactylus* but the ventral is quite different and typical. Also the red ornamentation is substituted by a yellow one.

The correct representation of color and design given in the plate dispenses a detailed description.

LEPTODACTYLUS OCELLATUS L.

Plate 31, figs. 3 and 4; plate 33, fig. 7; plate 35, figs. 3 and 4.

The species, now generally accepted as *L. ocellatus,* the name referring to the tympanum, is most widely spread and generally known in Brazil wherever there is no absolute want of standing water. It could not be confounded with the three larger species because of its differences in coloring and design, though it comes near them by its size, the nuptial characters of the male and its aquatic life. By these characters it is distinguished from *typhonius* and *gracilis*, somewhat similar but smaller species. Though adult males could not be mistaken, this might be the case with younger individuals of both sexes. In fact the litterature shows a good deal of confusion with other species, partly due to the fact that the material examined was dead and often badly conserved.

Our species is known firstly by its general appearance, secondly by the longitudinal glandular folds of the back, thirdly by the lateral crests of the toes, though this characer is not very striking in live specimens and is not exclusive, as little as the second.

The examination of a large number of individuals, caught in distant regions, shows a good deal of variation in size, shape, colouring and marking. The enormous size of some of the males is exceptional, as the sexual glands may function in much smaller males with not yet thickened arms and much smaller females may lay eggs. The form of the head may be narrow in young specimens and the snout more pointed. The bronze or olive ground of the back may become so dark as to hardly show the dark spots, while they are very striking on lighter ground. In the groins the ground may be greenish, blueish or yellowish and tha marking of the upper lip may also vary, but the greatest variation appears in the pigmentation of the ventral side. It may be wanting altogether, leaving the ground white, or cover it almost entirely, even in small specimens, suggesting the descriptions of *L. caliginosus*. Such variations, though not equally frequent in various places, may not be considered simply as geographical varieties.

Due to such variations the minute description of one specimen has only an individual value. The comparison of my figures and of a larger number of individuals, which might be found even on some markets, will give a better idea of the appearance of this species.

Allthough the species is so very common, its voice is not very often heard. When perceived even in day time (which in Rio de Janeiro occurs

at different seasons), it seems to indicate the period of propagation. I noticed it in the beginning of summer before the hot days had set in and then again commencing with February 15th at the station of *Amorim*, near our institute. I then found fresh eggs and rather large tadpoles, evidently from a former period. Females were found amongst the masses of eggs, deposited in swamp water, as already indicated by the two FERNANDES in their accurate observations.

The eggs are very dark with a yellowish white segment and measure 1—1,5 mm. in diameter. The young tadpoles are black with lighter branchiae, while they measure 5 mm. in length including the tail. They grow up to 4 cm. being than rather dark with oblique lines of yellow points. The tail is relatively long, 2—3 times longer then broad.

The voice, heard at intervals, imitates air bubbles issuing from a large tube full of water. It is not so strong, as the one of *pentadactylus* which is of a similar type. When there are many frogs, the sound is heard in quick succession, in other cases there are long interruptions. It may be represented by «mwu», according to the FERNANDES, but the consonants are not distinct.

SMALLER SPECIES OF LEPTODACTYLUS.

LEPTODACTYLUS TYPHONIUS DAUDIN.

Plate 32, figs. 1, 2 and 3; plate 33, figs. 1 and 2.

Syn.: *Rana sibilatrix* WIED, *Cystignathus typhonius* DUM. and BIBR., *ex parte.*

L. typhonius is a good and characteristical species though frequently misunderstood. The females are not very different from small specimens of *ocellatus* but the adult males are very much smaller and quite characteristical. Their arms are not thickened nor are there any nuptial excrescences, but there are two external vocal sacs generally retracted in two longitudinal fissures with black edges. The whole submental region is blackish, contrasting with the milky white of the venter. In both sexes the spot on the nape is profoundly divided and may form two or three smaller ones. The dorsal spots are numerous, small and disposed in series between the conspicuous glandular folds. Some specimens show a rather large white vertebral stripe. The appearance of a moustache is less evident than in *mystaceus* and *mystacinus* which lack the submedian glandular folds. The snout is prominent, the body somewhat elongated and the legs rather long. Already at the end of the metamorphosis the more mottled appearance is plainly seen. NIEDEN gives *typhonius* as smaller than *gracilis,* but in our zone I find the opposite relation.

The species is terrestrial and might be found far from the water. The adults hide in the grass or under the dry excrements of cattle. Being widely spread from the Argentine to the Guianas (and found by me in Trinidad and Venezuela), they play a very prominent part in the great nocturnal concerts, in which the whistlers are seldom wanting. The vocal sacs must increase the intensity of their whistling. Already WIED who had occasion to observe the habits of *typhonius,* called it *Rana sibilatrix.*

LEPTODACTYLUS GRACILIS D'ORBIGNY.

Plate 32, figs. 4 and 5; plate 33, figs. 3 and 6.

L. gracilis, described and figured by D'ORBIGNY, is spread from the plains of the River Plate and Rio Grande up to the limits of the tropical zone where it occurs at an altitude of over 1000 meters. I found this frog in Porto Alegre, in the mountain chains

of *Cubatão* and *Bocaina* and received many specimens from *São Bento* in *Santa Catharina*.

By its color and design, *gracilis* ressembles *typhonius* and small specimens of *ocellatus* but differs by its more slender form, the more pointed head, the great number of spots on the legs and between the dorsal folds, of which many are longitudinal. The adult males have a simple vocal sac and are only slightly different from the females.

In its habits *gracilis* seems intermediary between the above mentioned species being neither frankly aquatic, nor altogether terrestrial. It favors the neighbourhood of water to which it retires for concealment and egglaying, but may be found at a good distance from it. Its voice distinguishes it from other species. According to K. and M. FERNANDES (who made a good study of this frog), it sounds like a metallic hammer beating on a metal plate. The same authors give a figure of the tadpole which I observed also in the mountains of *Cubatão*.

I give here a description taken from specimens caught in the *Serra* da *Bocaina:*

The length does not exceed 40 mm. (NIEDEN gives it as 57 mm. but this must be quite exceptional). The hindlegs are long, the tibiotarsal articulation may be carried forward to near the end of the snout, while its distance from the end of the longest toe is about equal to the length of the two upper segments. The toes show lateral sutures, more distinct on the longest. The two last metatarsi are almost joined, the others separated by a membrane. Articular tubercules distinct, of the metatarsal ones only the inner is well developped. The metacarpus shows a large exterior tubercle. From the fifth toe springs a weak metatarsal fold and there is an indication of an appendix on the heel. The foretoes are rather short, the second shorter than the first.

The venter shows a distinct disc and its color is cream, merging into lemon at the flanks.

The head is quite long, the snout pointed and standing out over the mouth. The back shows five distinct yellowish-white folds, the middle one being much longer. Less distinct folds may be seen between this and the submedian. Between the dorsal folds there are many black spots on olive or bronze ground and a few white ones in the posterior half, between the lateral lines.

The tympanum, smaller than the eye, is brown with a white or yellowish margin and a dark center. Below the canthus, a black stripe runs from the tip of the snout to the eye broadening in its posterior part. Below it, there is another, white, sinuous and branched in front of the eye and, on the margin of the upper jaw, a black lateral line on white ground. On the side of the lower jaw there is a marginal stripe formed by little dark spots. The sides of the trunk are dark with white glandular spots.

Legs marked on the dorsal side with numerous dark spots, longitudinal on the thighs and forming crossbands on the other parts. Metatarsus and tarsus dark below and white on the outer side. Arms black and white marbled.

Vomerine teeth forming two almost contiguous arched lines. Lower jaw with a toothlike median prominence fitting in a groove of the upper jaw. Eyes approximate, the distance between them about equal to the width of an upper eyelid.

LEPTODACTYLUS MYSTACEUS (SPIX)

Plate 32, figs. 6 and 7

Syn.: *Rana mystacea ex parte; Cystignathus typhonius* DUM. and BIBR.,

ex parte; Cystignathus poecilochilus COPE.

This frog, though common, wide spread and characteristical, has been generally confounded with other species having some characters in common as the whistling voice, a black stripe in the shape of a moustache and the habit of living concealed, often very far from the water. To obtain specimens it is often necessary to dig in the earth where they live in holes, often with two issues. In such holes, near, but not in, the water they lay their eggs, as HENSEL described for the species *mystacinus*. These are found in cavities with perfectly smooth walls, probably a transformation of rat holes or accidental depressions. The tadpoles may be found close by in cavities containing water and can be easily bred, till their metamorphosis confirms the classification.

The catching of these frogs is very difficult, as they call at night from near or inside their holes and hide immediately when the collector approaches. The localisation of the voice coming out of the holes is very difficult. Marking the place where the call is heard, one may dig them out in daytime, after cleaning the ground which is generally covered with vegetation. They are also found in agricultural work.

This frog occurs probably in nearly every state of Brasil. It is quite different from *typhonius* though the voice is somewhat similar.

The call of this and at least two other species is a short and repeated whistle sounding like *huit* and might be easily attributed to a bird. This species might be distinguished from others by its whistling, but it needs practice and a good ear to do so. They are frequently heard at nighttime. Near Rio de Janeiro they occur on some level and more or less cultivated ground but are missing in other more hilly regions with quickly flowing water.

The black stripe, compared with a moustache and running from the tip of the snout beneath the canthus and through the eye, is a good character, though found in some other species. A marginal glandular fold on the back is partly white and there is a white coccygeal line continued on the thigh, characters not found in *mystacinus*. The limbs show dark crossbars and the back some rather faint spots, one of them between the eyes. The ground on the upper side is generally olive-colored, but, under somewhat unknown conditions, may become reddish.

The tadpoles of *mystaceus* were found in a woodpool which dried up after a few days while the adults where heard close by. They were bred and a young frog obtained. Twelve others were found under ground at the same place, some time later. Just after transformation their length is 15 mm. The tadpoles were gray, lighter than those of *ocellatus*, and with the yellow points less marked.

LEPTODACTYLUS MYSTACINUS (BURMEISTER).

Plate 32, figs. 8 and 9.

BURMEISTER's species was named in 1861 and thoroughly described by HENSEL under the erroneous name of *mystaceus*. It has been confounded again or redescribed as new. MEHELY has given a chromolithography of a male, dead and preserved, which agrees with my figure taken in life but for the rather strange coloring. HENSEL indicates a length of 42 mm., but 55 or more have occurred in my specimens. The ressemblance with a toad, pointed out by HENSEL, applies to the body with rather stout and short legs, but is wanting in the head.

The ground on the upper side varies from slightly metallic olive-yellow to brownish or even reddish. There are some glandular warts or stripes quite black and others, appearing as shiny granules, are disseminated over back and members.

The flanks are typically marked with incomplete black rings. The under side is almost entirely white. The moustache is well accentuated. The tympanum is large, dark brown with still darker centre and white margin. There are no secondary sexual characters. The hindtoes have a line of separation between the dorsal and ventral side though scarcely raised. Outer metarsal tubercle rather large, the inner much smaller.

This frogs also whistles and the voice, when heard outside of the hole, seems more metallic than in the other species. It hides in holes of a size which is not attributable to its work alone. It is terrestrial and the eggs are deposited in holes as in the case of *mystaceus*.

This species according to NIEDEN ranges from Argentine to Venezuela, but it seems somewhat rarer than *mystaceus* and *typhonius*. (I did not find it in Venezuela).

LEPTODACTYLUS RHODOMYSTAX BOULENGER

Plate 32, fig. 13.

The name *L. rhodomystax* was given to a young specimen of 25 mm. in length, collected in *Yurimagua* in northeastern Perú. Afterwards LORENZ MUELLER described two specimens from *Pará*, a young one of 20 and an adult male of 68 mm. in length. RUTHVEN mentioned specimens from *British Guiana* which, according to NOBLE, belong to *L. pentadactylus*. On the same occasion NOBLE described a male of 56 mm. length from KARTAABO which, on account of minor differences, he named *L. stictigularis*. I have a not quite adult male from *Bahia*, kept alive while it was painted in natural colors. Its length is 55 mm.

All these observations refer to a species rather large in adult state, distinguished by a roseate or reddish color of the back and by a submarginal stripe of the upper lip. It may show marginal glandular folds on the back and the posterior side of the thighs dark with light spots. The under side is not altogether white, but punctuated with dark in varying extension. In my specimen the pigmentation is limited to the margins of the under jaw, the belly and two lateral zones of the *gula*, while in *stictigularis* it is more intense and more extended. The authors fail to mention the ressemblance to *L. mystaceus*, which in my specimen suggest some doubts about the duality of the species. However, many minor differences in the coloration and the size of the specimens indicate the existence of two closely allied species, of which the larger is limited to the north. Perhaps *stictigularis* may belong to a third species but this question can only be decided by the examination of more material and if possible of the types.

JOAQUIM VENANCIO who caught my specimen compares its voice with the whistling of the *inhambú* (a kind of *Tinamus)* at the beginning of its call.

LEPTODACTYLUS TROGLODYTES, n. sp.

Plate 32, fig. 12.

The name refers to an adult female *Leptodactylus* collected by Dr. CONRAD GUENTHER of Freiburg i. B. in the nest of an ant *(Atta sp.)* in *Pernambuco* and given to me in 1924.

The specimen in alcohol has a white color, more or less mixed with brownish and chocolate spots on the back.

Snout rounded, obliquely projecting over the mouth. *Canthus rostralis* rounded and *loreal region* somewhat excavated. *Tympanum* broader than high, almost as large as the eye, in the middle with a white point, surrounded by a brown circle, the margin black and the intermediary zone brownish. Above and behind the tympanum a crescent shaped, somewhat elevated black fold. Interorbital space oblique and rather narrow. Upper lip with a median groove receiving a toothlike prominence of the under one. Tongue oval, free behind. Vomerine teeth in two slightly convexe and nearly contiguous series just behind the rather large choanae. Skin smooth above and below, granular only on the lower side of the thighs. No larger and well accused glands. The abdomen is full of cream-colored eggs with a diameter of 1—2 mm. When the hindleg is put along the side of the body, the tibiotarsal articulation reaches a little beyond the eye.

On the head a nearly wedge-shaped spot, with its base between the eyes and its point slightly behind the level of the nostrils. A little more to the front begins on each side a lateral stripe, composed first of small spots, which extends over the nostrils and the frenal region, passing as a narrow line under the eye and broadening between it and the tympanum. One branch continues as an irregular margin above and behind the tympanum while the other forms two successive detached spots more inward. Below the fore margin of the eye a subrhombical spot extends obliquely to the margin of the lip which is otherwise white or only slightly blackened. Between the posterior half of the eyelids and invading the right one, there is a spot of a W shape without any cavity and with the points directed backwards. There are two more larger spots on the vertebrae and transverse processes and behind them some smaller ones reaching the anal fold. The lateral zones are brownish and contain a longitudinal stripe of small whitish spots. Limbs above with dark crossbands. Inner side of the thighs dark, sprinkled with white in its proximal half.

Hands with subarticular and palmar tubercles well developped, the latter fit for digging. Fingers pointed, rather short, the second much more than the first, and without a distinct lateral or interdigital membrane; two moderately developped metatarsal, but no tarsal tubercle.

The specimen appears rather large and thick, partly due to the development of the ovaries.

LEPTODACTYLUS NANUS LORENZ MUELLER

Plate 32, figs. 10 and 11.

L. nanus is not frankly aquatic being found in overgrown places when the superficial pools, in which they breed, might be already dry. It is not really rare but may easily escape attention.

The original description is very detailed, so that the determination of my specimens could not be doubtful, even if they had not been aknowledged by the author. In live specimens, male and female, the general color is mostly somewhat ferruginous while the transparent ventral skin appears slightly fleshcolored. The dark spot of the nape has some alveoli of the groundcolor and the Lambda-shaped spot includes a space of the same color, as the white vertebral line, seen in the posterior half of the back. I find the distance between the eyes larger than the width of the upper eyelid and more like its length. The tibia has more or less the length of the head, not of head and trunk together, as stated in the text by a clerical error.

The eggs are very large and entirely light yellow; they are easily perceived while still enclosed in the abdomen.

The voice was never heard, unless it be a whistle like in two other species gathered in the same place.

The length from the tip of the snout to the anal fold may reach 25 mm.

I got several specimens in three places, *Nitheroy, Campo Bello* and *Angra dos Reis,* besides some single ones from various places. They seem to prefer slightly accidented regions.

LEPTODACTYLUS TRIVITTATUS n. sp.

Plate 32, figs. 14 and 15.

L. trivittatus comes certainly very near to *L. nanus,* as well by its size, as by its habits, but the differences in color and design, failing transitions, do not allow to consider them a single species. They were found in the same regions but in different places. My live specimens of *trivittatus* used to hide in day time.

Adult females were 22 mm. long. The tongue is free behind and the vomerine teeth form two rectilinear groups, with a narrow interval.

The upper side of the body shows three longitudinal stripes of terracotta or slightly more intense red. The median one is generally limited to the posterior half of the back. The lateral ones begin on the upper eyelid and end at the inguinal fold. On the last 4 mm. the red color changes into cream. This also prevails on a sinuous band beginning under the eye and ending at the root of the arm becoming narrower while it passes under the tympanum. The terracotta tinge also invades the dorsal side of the elbow and knee with their surroundings. In a smaller specimen the median stripe, though narrower and interrupted, appears also on the anterior half of the back.

I have one specimen from the *Serra de Cubatão* and a few from *Campo Bello,* two of them found under felled tree-trunks and one in the grass. The voice is not known.

LEPTODACTYLUS CALIGINOSUS GIRARD.

L. caliginosus, known to me only by one specimen from *British Guyana,* received from the *Am. Museum of Nat. Hist.* in *New York* is supposed to occur in *Pernambuco* and *Matto Grosso,* also in *Central America* up to *Mexico.* This would be a very wide distribution, if the specimens all belonged to the same species which is rather doubtful. My specimen is certainly a *Leptodactylus* but the lateral membrane on the toes, considered a distinguishing character by BERG, is not conspicuous, not at all like in *Crossodactylus Gaudichaudi,* erroneously included in *Leptodactylus.* The absence of glandular folds, also used in the key of BERG, agrees with my specimen. The pigmentation, of the under side distinguishes it from all my material, with exception of some specimens of ocellatus.

Perhaps the *L. brevipes,* described in 1887 from *Matto Grosso* by COPE, might be an equivalent of our *caliginosus.*

Addendum: I have since collected similar specimens in Venezuela. The male is caracterised by thickened arms and black horny papillae at side and end of the first finger, quite exceptional for so small a species. The pigmentation of the ventral side varies in extension and intensity.

LEPTODACTYLUS LONGIROSTRIS BOULENGER.

Plate 33, figs. 4, 4a and 4b.

Longirostris seems to have been found only once in *Santarém* and comes

rather close to *mystaceus, mystacinus* and *caliginosus*. BAUMANN thinks to have recognized the same species in material from the *Serra dos Orgãos,* but this is most unlikely, as his specimens do not agree with the description. Always supposing that *longirostris* is a new and good species, we cannot expect to find it in the mountains near Rio when it has been collected only once and then on the Amazon.

To help comparison I reproduce the figure of BOULENGER.

LEPTODACTYLUS PROGNATHUS BOULENGER, 1888.

Plate 35, figs. 1 — 4.

L. prognathus described from a young specimen from the state of *Rio Grande do Sul* was observed also in *Uruguay,* the *Argentine* and *Paraguay.* According to the FERNANDES it ought to be common near *La Plata,* as its voice sounding like «pink, pink» is heard everywhere. These authors, from whom I received one or both of my specimens, studied this species and its evolution. For the length they give 33 mm., but the larger of my specimens measures 36—37, being thus the smallest species after *trivittatus* and *nanus.* The head is elongate with prominent snout; the back shows lateral glandular folds and some dark spots, one of them between the eyes. The under side shows a distinct discoidal fold but no dark pigmentation. Toes without lateral or basal membranes. The male cannot be confounded on account of two dark clefts between the maxillary branches indicating vocal sacs.

I give photographs of my specimens which were already some time in alcohol. The larger one is an adult male, the smaller a halfgrown female.

LEPTODACTYLUS PUSTULATUS (PETERS).

Plate 36, figs. 5 and 6.

Under the name *Entomoglossus pustulatus* PETERS described a frog of 46 mm. length and with a cordiform tongue. This does not exclude the genus *Leptodactylus* in which it was placed by BOULENGER. I have a semiadult specimen from Bahia, looking like a *Crossodactylus,* whose pointed fingers and vomerine teeth suggest the genus *Leptodactylus.* The tongue is notched behind and it agrees pretty well with the description of PETERS, except that the under side is light with black vermiculations, instead of showing numerous round yellowish white spots. I cannot place it in any other known species and the habitat speaks in favor of including it, at least provisorily, in the species of PETERS, which apparently has not been found again.

Rio, April 15th, 1925.

SUPPLEMENT

The last of the not coloured plates represents two species of *Leptodactylus* studied by me in Venezuela and not unlikely to occur also in brazilian territory. Both are good, though little known species.

LEPTODACTYLUS BOLIVIANUS BOULENGER.

Plate 37, figs. 1 and 2.

The description refers to bolivian specimens but the species is common in Venezuela. I received also a specimen from Panamá, already determined at the American Museum of Natural History. This shows that the species is widely spread. The first description is not very accessible, but the monograph of NIEDEN contains a translation on page 482.

At first sight *L. bolivianus* might be mistaken for *ocellatus* but it is easily distinguished by the absence of the submedian glandular crests. There is only one along the sidemargins of the back, often covered or accompanied by a black band. The back is also bottlegreen or olive with irregular black spots, among which there is an interocular and a larger fenestrated or divided interscapular one, while others form bars on the limbs. The under side is white but more or less dotted with black, principally in the male which is distinguished by thickened arms and often shows a black nuptial brush at the side and on the end of the pollexrudiment. The female is not smaller but has slender arms. On the back of both there may be some elongated glandular warts while the under side of the thighs is granulated. There are slighly elevated edges at the side of finger and toes and most of the other characters are like those of *ocellatus,* for which *bolivianus* may be considered a substitute.

The voice was never heard but ought to be like that of *ocellatus,* to judge by a description of ROBINSON (v. Proc. U. S. Nat. Mus., v. 24 p. 180.) which might be referred to *bolivianus,* the existence of *ocellatus* near La Guaira being very doubtful.

The length, given by BOULENGER (105 mm.) is exceptional, as most of the adults do not completely reach 80 mm. in length.

LEPTODACTYLUS DIPTYCHUS BOULENGER (nec *diptyx* BOETTGER).

Plate 37, fig. 3 and 4.

The description from a single specimen with the locality: «Andes de Venezuela» appeared in: The Annals of Nat. Hist., 1918, ser. 9, vol. 2, p. 431.

The length given is 44 mm. but my adults (all males) measure only about 38 mm.

Leptodactylus diptychus is not so common as *bolivianus* and keeps itself more concealed, but it is fairly wide spread, as at night its voice, intermediate between croaking and „histling", is frequently heard and easily distinguished. It generally hides in holes near the edge of the water.

The males are not distinguished by thickened arms or nuptial brushes but show at the sides of the *gula* two longitudinal pigmented blotches indicating the site of the vocal sacs.

The vomerine teeth form behind the choane two separate crescents with anterior convexity. The snout is very prominent above and retroceding obliquely below, as in *prognathus* to which it seems related. The dorsum has a gray-brown ground with irregular dark blotches, one generally found between the scapulae. The rounded canthus rostralis is indicated by a rather indistinct darker stripe. On each side there is a little fold over the tympanum and a retroocular and dorsomarginal glandular crest of somewhat lighter colour. On the sides are longitudinal glandular warts forming widely interrupted bands. Upper side of legs with many dark crossbands and scattered with glandular dots. There is also a light line with darker edges on the inner side of the thighs. The under side of the body is white.

EXPLANATION OF PLATES. 30—37.

Plate 30

Figs. 1 & 2. Adult male of *Leptodactylus pentadactylus*. Dorsal and ventral aspect. 1/4 nat. size.

Figs. 5 & 6. Same species, larva and quite young frog. Natural size.

Figs. 3 & 4. Adult male of *Leptodactylus ? gigas* SPIX. Dorsal and ventral aspect. 1/4 nat. size.

Plate 31

Figs. 1 & 2. Adult female of *L. ? gigas*. 1/4 natural size.

Figs. 3 & 4. Adult of *L. ocellatus*. Exceptionally large and dark specimen. 1/4 nat. size.

Figs. 5 & 6. Adult female of *Leptodactylus flavopictus* n. sp. 1/1 nat. size.

Plate 32

Figs. 1—3. *L. typhonius*. Adult male. Upper and lower side and head in side view. 1/2 nat. size.

Figs. 4 & 5. *L. gracilis*. Quite young specimen. Nat. size.

Figs. 6 & 7. *L. mystaceus* adult. 1/2 nat. size.

Figs. 8 & 9. *L. mystacinus* adult. 1/2 nat. size.

Figs. 10 & 11. *L. nanus* L. MUELLER. Adult male and female. Nat. size.

Fig. 12 *L. troglodytes* n. sp. Adult female. 1/2 nat. size.

Fig. 13. *L. rhodomystax* BOULENGER (?). Adult 1/2 nat. size.

Figs. 14 & 15. *L. trivittatus* n. sp. Quite young specimen. Nat. size.

Plate 33.

Figs. 1 & 2. *L. typhonius*, adult male. Dorsal and ventral aspect. Original photograph in nat. size.

Fig. 3. *L. gracilis*. Adult with white vertebral stripe. Nat. size. Copy from the paper of K. & M. FERNANDES.

Figs. 4, 4a & 4b. *L. longirostris*, copied from the original figure of BOULENGER.

Fig. 5. Adult of *L. prognathus*.

Fig. 6. Tadpole of *L. ocellatus* beginning its metamorphosis.

Fig. 7. Tadpole of *L. ocellatus* beginning its metamorphosis.

Figs. 5—7, were copied from the paper of K. and M. FERNANDES.

Plate 34.

Fig. 1. Adult *L. typhonius* with white large median stripe, from *Bello Horizonte*. Nat. size.

Figs. 2 & 3. *L. pentadactylus* (from *Bahia*). showing unicolorous and variegated type. Half grown specimens. Nat. size.

Figs. 4 & 5. *L. ocellatus*, adult male; 4 showing two white longitudinal stripes on back and the crests indistinct; 5. ventral side little pigmented. 1/2 nat. size.

Plate 35.

Figs. 1 & 2. *L. prognathus*, male, nearly full size.

Figs. 3 & 4. Female, halfgrown.

Figs. 5 & 6. *L. (Entomoglossus) pustulatus* PETERS, young specimen ?

Plate 36.

Fig. 1. *L. bufo* ANDERSSON, male (from *Ponta Grossa*).

Fig. 1a. foot.

Fig. 2. *L. pentadactylus* of same size for comparison.

The photographs of ANDERSSON's figure and of my specimen were reduced in the same proportion to nearly 1/3.

Plate 37.

Figs. 1 & 2. *L. bolivianus*, ad. male. 1/2 nat. size.

Figs. 3 & 4. *L. diptychus*, adult male. Nat. size.

Newer publications on brasilian species of Leptodactylus.

FERNANDES, K. & M. — Sobre a Biologia e Reproduccion de algunos Batrachios Argentinos. I. Cystignathidae. Anales de la Sociedad Cientifica Argentina, tomo XCI, pg. 97 y sig., 1921—Buenos Aires.—Coni.

LORENZ MUELLER, — Froschlurche v. S. Catharina. Bl. f. Aquarien—und Terrarienk., Jhrg. 33, n. 11, pg. 168, 1922. (L. nanus).

LORENZ MUELLER, — Neue oder seltene Rept. und Batr., Zoolog. Anz., Bd. 57 n. 1—2, pg. 41, 1923. (L. andreae).

Estudo histo-pathologico do systema nervoso central em paralysia experimental determinada pelo SCHIZOTRYPANUM CRUZI

PELOS

Drs. Eurico Villela e C. Magarinos Torres

do Instituto Oswaldo Cruz

(Com as estampas 38—51.).

INTRODUCÇÃO

A histopathologica do systema nervoso na schyzotrypanose é questão já anteriormente abordado por diversos pesquizadores.

CHAGAS refere a producção de paralysia em gatos.

GASPAR VIANNA, na fórma aguda da molestia de CHAGAS, assignala a existencia de focos inflammatorios espalhados em toda a substancia nervosa do cerebro, cerebello, nucleos da base, protuberancia, bulbo e em varios segmentos da medulla.

Julga que a cellula que abriga o parasito é uma cellula da nevroglia, sendo o primeiro a interpretar a pathogenia do processo, que caracteriza como uma meningo-encephalo-myelite.

MAGARINOS TORRES e VILLAÇA, em cães novos inoculados com o schizotrypano, mas que não apresentaram paralysia, observam nos centros nervosos uma encephalo-myelite benigna em focos, de marcha aguda acompanhada de proliferação das cellulas da nevroglia do typo de «*körnchenzellen*»; os focos são constituidos por cellulas da nevroglia hypertrophiadas, por «*abräumzellen*» de origem neuroglica, por cellulas da nevroglia com phenomenos regressivos, tambem sendo encontradas cellulas plasmaticas em quantidade variavel.

CROWELL na autopsia de um caso agudo da molestia de CHAGAS nota que as leptomeninges sobre os hemispherios e a base são levemente espessadas e apresentam uma discreta infiltração por cellulas mononucleares e lymphocytos. Não sendo intenso em nenhum ponto, o processo é, porém, bastante uniforme e inconfundivel; na substancia nervosa encontra agrupamentos de cellulas do typo de cellulas da nevroglia associadas a cellulas mononucleares; elementos que parecem cellulas da

nevroglia encerram grande numero de parasitos.

Sem embargo, uma paralysia experimental atribuivel ao *Schizotrypanum* não mereceu a attenção dos pesquizadores, até que EURICO VILLELA, em nota apresentada á Sociedade Brasileira de Biologia (C. R. de la S. de Biologie, 31—X—924), assignala a obtenção de paralysia em cães adultos inoculados com uma raça de *Schizotrypanum Cruzi* muito virulenta proveniente da infecção natural do tatu (*Tatus novemcinctus* L.). paralysia que se reproduz systematicamente, com raras excepções.

Complementar a esta nota, e assumpto principal deste trabalho é a exposição do resultado do estudo histo-pathologico do systema nervoso central dos cães paralyticos obtidos daquella maneira.

Em estudos por nós iniciados ha cerca de 10 annos obtivemos uma cadella paraplegica que morreu em convulsões clonicas e tonicas. O exame histologico da medulla e do cerebro revelou nelles a presença de focos inflammatorios onde era encontrado o parasito sob a fórma de *Leishmania*.

Posteriormente em 1916 e 1917, procurando verificar a transmissão intra-uterina da doença experimental, um de nós (E. VILLELA) obteve uma cadella paraplegica que sobreviveu, vindo a parir mais tarde 3 cachorrinhos. Destes, dois ficaram tambem paraplegicos, sem nova inoculação, sendo provavel que a infecção fosse congenita. O *Schizotrypanum cruzi* não foi, porém, encontrado no sangue de nenhum dos 3, e como não fosse examinado o material, não poude ser provada a hypothese de uma paralysia consequente á infecção congenita. (1)

A ultima serie de experiencias que nos forneceu material para o presente estudo fôra iniciada tambem com o fim de verificar a transmissão intra-uterina, as condições em que esta se faz, e os factos da doença congenita.

Nossa attenção foi, porém, desviada para a gravidade da infecção que determinava o aborto nas cadellas, a morte em curto prazo e para o grave ataque ao systema nervoso, que se expressava por convulsões, paralysias, titubeação, desordens da marcha, etc.

Apezar dos trabalhos referidos muitas questões interessantes esperavam uma solução satisfatoria.

Eram ellas, entre outras, a verdadeira natureza das cellulas que encerram o *Schizotrypanum cruzi* no tecido nervoso, pormenores histo-pathologicos sobre a paralysia experimental, e ainda a pathogenia do processo a qual, abordada por GASPAR VIANNA, carecia ainda de confirmação ou critica autorizada.

Não queremos affirmar que o presente trabalho resolve todas as questões fechando o campo de indagações nesse sentido; é nossa vontade, ao contrario, que elle venha iniciar uma serie de novas pesquizas. Já de antemão podemos suggerir o interesse que, no ponto de vista geral, offerece a indagação na paralysia dos cães, das lesões da nevroglia, principalmente do «terceiro elemento», usando de methodos recentemente introduzidos em technica neuro-histologica e da maneira por que se comporta o systema de fibras de conducção nesse processo de encephalomyelite diffusa.

E o que dizer do estudo anatomo-pathologico do systema nervoso na fórma nervosa da molestia de CHAGAS? Tão complexa, quão empolgante, é questão ainda inexplorada que reclama a actividade dos neuro-pathologistas.

As amostras do *Schizotrypanum cruzi* que serviram a nossas experiencias

---

Nota (1)—Esta hypothese é plausivel uma vez que ja encontramos (Eurico Villela) focos de encephalite em cães recemnascidos, cuja infecção fôra adquirida congenitamente.

provinham da infecção natural do tatú, colhidos nos arredores de Lassance (N. do Estado de Minas), onde elles são abundantes e se mostram infectados em alta proporção. E' essa uma região onde grassa de modo endemico a trypanosomose americana.

A virulencia do *virus* do tatú que já é naturalmente grande, exalta-se pela passagem em cães novos e cobayas. Na maioria das inoculações o *virus* soffrera numerosas passagens; em um caso, porém, era elle de segunda passagem, apenas, pela cobaya.

O material inocculado foi o sangue em quantidade que variou de 1 a 5 c. c.; ora sangue de cão jovem, ora de cobaya, ora de outro cão paralytico.

A via de inoculação foi a subcutanea.

O periodo de incubação apresentou o minimo de 5-6 dias, sendo porém variavel. Não foi feito exame systematico para determinal-o em todos os casos. O quadro annexo, que traz anotado o dia do apparecimento do *schizotrypano* no sangue, não marca a epoca exacta deste apparecimento, mas o dia em que o sangue foi examinado com resultado positivo. E' que o exame era feito, em muitos casos, com o fim unico de vérificar a infecção e ao tempo em que esta era mais provavel. Na maioria dos casos o schizotrypano é encontrado pelo exame a fresco durante um periodo curto. Não raro ao apparecer da paralysia não mais é encontrado pelo exame a fresco, sendo necessario o recurso da inoculação para demonstral-o.

A's vezes, porém, mantem-se abundante por toda a evolução da molestia, sem que haja uma correspondencia exacta entre o numero de schizotrypanos no sangue peripherico e a gravidade da infecção.

De passagem fique a nota de que as infecções com abundancia de parasitos no sangue circulante, acompanham-se de edemas accentuados.

A virulencia do *virus* é indicada pela reducção do periodo de incubação, pelo grande numero de parasitos no sangue circulante e pela gravidade da infecção que leva á morte na maioria dos casos, em praso curto.

Muitos dos animaes foram sacrificados. E' preciso dizer, porém, que o eram quando as condições já faziam prever a morte em breve praso; eram casos para os quaes a experiencia já nos autorizava um prognostico fatal dentro das 24 horas.

Quer a inoculação fosse feita com o sangue de cães jovens, de cobayas, ou dos cães adultos paralyticos, os symptomas nervosos appareciam com a mesma constancia, sendo obtida a reproducção das paralysias em serie.

A paralysia é manifesta principalmente nos cães adultos (v. figs. 1 a 8, Est. 38 a 41). Nos cães jovens parece que a molestia evolve com mais gravidade e em menor praso, de modo que dominam os signaes de infecção aguda sem que haja tempo para manifestações clinicas de um ataque ao systema nervoso com localisação definida; sem embargo, o estudo anatomo-pathologico em taes animaes, revela uma encephalomyelite. O mesmo acontece, ás vezes, em cães adultos. A inoculação 65 é, porém, um exemplo de paralysia em cão jovem.

As cobayas que apresentam tambem presença de numerosos parasitos no sangue circulante nunca apresentaram paralysia. Carneiros jovens (de um dia a um mês) não adquirem paralysia embora se infectem; verdade seja que nelles os parasitos são pouco numerosos no sangue circulante e ahi permanecem curto prazo de tempo.

SOUSA CAMPOS inoculando o conteúdo do intestino de barbeiros alimentados em animaes infectados, ou culturas do *virus* de que nos utilizavamos

em agar-sangue de coelho obteve o mesmo resultado.

O mesmo autôr obteve coelhos e camondongos brancos paralytiicos empregando ainda o mesmo *virus*.

Tratar-se-há de um neutropismo especial do *virus*, ou dependerá apenas de virulencia exaltada ?

E' um ponto interessante que, E. VILLELA e EVANDRO CHAGAS tratam de esclarecer. Como facto já adquirido pelo trabalho destes ultimos pesquizadores, verifica-se que cães inoculados parallelamente com germen de proveniencia humana e do tatú não ficaram paralyticos, e em um delles, a reinoculação com o *virus* do tatú foi positiva, ao contrario do que acontece com as reinoculações em geral, que não dão nova phase com presença de parasitos no sangue circulante.

A interpretação exacta do facto não está, porém, esclarecida: é um ponto interessante que talvez venha lançar luz sobre a pathogenia da forma nervosa da molestia de CHAGAS.

O material para o presente estudo provém todo de cães. Os cães eram fornecidos pela Limpeza Publica que os apanhava indistinctamente pelas ruas da cidade do Rio de Janeiro.

Cães de rua, sem raça especial, ou de varia raça, adultos, embora de idade não determinada, e de varios tamanhos. Permaneciam no canil do laboratorio pelo menos 15 dias antes de inoculados. Como iniciaramos as inoculações para estudar a transmissão intrauterina, a principio inoculavamos, de preferencia, cadella; depois indifferentemente, cães e cadellas.

Como cães adultos e cães de rua, era de esperar que tivessem resistencia natural ou adquirida ás molestias infectuosas mais communs: piroplasmose e «*distemper*» (staupe).

Muitos apresentavam sarna canina e ulceras multiplas nos pontos de extensão, cuja natureza não foi determinada.

Para verificar a associação possivel da «*canine distemper*» fizemos algumas experiencias, que vão referidas adiante, todas com resultado negativo. A demonstração do shizotrypano nas lesões, feita posteriormente em todos os casos, deixa fóra de duvida a etiologia.

A necropsia era feita logo após a morte, não medeando nunca entre uma e outra periodo maior de 12 horas.

Quando previamos a morte para curto praso e que a necropsia não poderia ser feita em tempo util, o animal era sacrificado pelo chloroformio e necropsiado immediatamente.

Retirado o systema nervoso central era elle fixado nos reagentes seguintes:

Alcool a 96º.
Liquido de ZENKER.
Sublimado alcool de SCHAUDIN.
Formol a 20 %.
Formol-bromureto de ammonea.

Escolhiamos para estes fixadores de preferencia fragmentos das circumvoluções da zona motora e do hippocampo do cerebro, dos entumecimentos cervical e lombar da medulla, e de zonas indifferentes do cerebello.

O restante do material era conservado em formol a 10 % para os procedimentos posteriores.

1) Material do alcool a 96º, era incluido em celloidina e sobre elle usadas as colorações:

a) UNNA—PAPPENHEIM (methylgrün—pyronin).

b) NISSL com azul de UNNA e azul de toluidina.

II) Material fixado em ZENKER era corado de preferencia pela hematoxylina-eosina, hematoxylina VAN GIESON, e eventualmente pelo methodo de MANN e hematoxylina de MALLORY (phosphotungstica).

III) Material fixado em formol a 20 % era destinado á impregnação ar-

	Nº. da inoculação	Especie Raça Sexo Edade	Material inoculado	Data da inoculação	Proveniencia do virus	Data da verificação do Shizot. no sangue	N. de dias entre a inoc. e o apparecimento do sangue	Data da verificação dos symptomas	N. de dias entre a inoc. e o apparecimento dos symptomas	Symptomas e evolução	Morte	Data da morte	N. de dias entre a inoc. e a morte	Observações
1	10	cão de rua adulto ♂	sangue de cão jovem	21-III-922	tatú					Paralysias.	sacrif.	5-V-922	45	Não foram encontrados Shizot. no sangue, na autopsia. Foi retirado sangue para o cão 26.
2	11	cão de rua adulto ♀	sangue de cão jovem	21-III-922	tatú					Paralysias.	sacrif.	29-IV-922	39	
3	12	cão de rua adulto ♀	sangue de cão jovem	21-III-922	tatú	17-V-922 (raros)				Enfraquecimento geral que se aggravou até a morte Não teve paralysia bem typica.	morte	20-VII-922	120	Em exames feitos a 8-VI e 10-VII não foram encontrados Shizot. Forneceu sangue para os cães 25 e 29.
4	15	cão de rua adulto ♀	sangue de cão jovem	27-III-922						Paralysia dos 4 membros.	morte	1-V-922	35	Não foi approveitado o material para estudo.
5	19	cão de rua adulto ♀	sangue de cão jovem	27-III-922				4-V-922	38	Lacrimejamento. Edemas do ventre. Paresia dos 4 membros. Exulcerações no dorso. A paralysia se accentua, pelo que foi sacrificada.	sacrif.	11-V-922	35	Não ha referencia ao exame do sangue. Forneceu sangue para a cad. inoc. 23 que teve abundantes Shizot. no sangue.
6	23	cão de rua adulto ♀	sangue do cão inoc. 19	4-V-922	tatú	23-V-922	19	6-V-922 (edemas) 23-VI-922 (paresia)	50	Edema do tronco, que se tem accentuado. Edema variavel de um dia para outro. Paresia dos membros posteriores. Mais tarde convulsões tonicas e clonicas provocadas por qualquer excitação, seguindo-se coma.	sacrif.	26-VI-922	53	Teve sempre abundantes Shizot. no sangue, desde o dia 23-V até quando sacrificada.
7	25	policial adulto ♀	sangue do cão inoc. 12	4-V-922	tatú	23-V-922	19	12-VI-922	39	Paresia dos membros, mais dos posteriores. Convulsões clonicas e tonicas com perda de sentidos. Emagrecimento.	morte	13-VI-922	40	A 12-VI já não mais foram encontrados Shizotrypanos no sangue.
8	27	cão jovem ♀	sangue de cão jovem	9-V-922	tatú	23-V-922	14	12-VI-922	34	Paralysia dos membros posteriores. Arqueamento do dorso. Emagrecimento. Tontura. Desiquilibrio. A paralysia e as titubeações se accentuam. Prostação geral.	sacrif.	14-VI-922	36	
9	29	fox-terrier adulto ♂	sangue inoc. 12	19-V-922	tatú			VI-922		Emagrecimento. Inappetencia. Paresia dos membros anteriores. A paresia se accentuou durante algum tempo para depois retroceder melhorando o estado geral. Appareceram posteriormente ulceras profundas, penetrantes da art. tibio-tarsica com grave estado geral.	sacrif.	16-VIII-922	81	As ulceras, que se iniciam por pequenas exulcerações, appareceram quando a paralysia já se podia considerar curada. As ulceras penetravam as articulações tibio-tarsicas.
10	31	cão de rua adulto ♀	sangue de cobaya	24-V-922	tatú (2a.pas.)			7-XII-922	150	Paraplegia dos 4 membros. Exsudato purulento das conjunctivas.	morte	16-VIII-922	163	
11	35	cão de rua adulto ♀	sangue do cão inoc. 23	9-VI-922	tatú			20-VII-922	40	Paresia dos membros posteriores. A paresia se aggrava e apparece a diarrhéa. Atrophia dos membros posteriores diminuindo a paralysia. Ulceração da art. tibio-tarsica.	morte	8-VII-922	60	O material não poude ser approveitado.
12	40	adulto ♀	sangue do cão inoc. 23	26-VI-922	tatú			4-VIII-922	39	Paralysia dos membros, principalmente dos posteriores, que se accentuou. Emagrecimento, convulsões.	morte	6-VIII-922	41	O sangue deste cão, filtrado em vela Berckfeld V e inoculado no cão 50 não produziu paralysia. O sangue não filtrado, inocá cobaya 52 determinou neste animal uma infecção pelo Shizotrypanum cruzi. O cão 50, inoculado posteriormente com sanguedo cão 81 em 12-X-922 ficou paralytico.
13	41	cão de rua adulto ♀	sangue do cão inoc. 23	26-VI-922	tatú			7-VIII-922	42	Emagrecido. Triste, paresia dos membros posteriores que tem se accentuado. Edema. Apparecimento das ulceras nas pernas. Estado geral peiora durante alguns dias. Apparição de diarrhéa. A paralysia cedeu, mas o estado geral aggravou-se sempre.	sacrif.	22-IX-922	86	Macroscopicamente: congestão cerebral. Periesplenite. Myocardite.
14	44	cão de rua adulto ♂	sangue de cobaya	27-VII-922	tatú	7-VIII-922	17	18-VIII-922	28	Emagrecimento; paresia: tanto uma como outra tem se accentuado, com difficil estação de pé. A paralysia é no membro posterior esq. que arrasta durante a marcha.	sacrif.	6-IX-922	47	
15	50	cão de rua adulto ♀	sangue do cão inoc. nº 18	12-X-922				16-XI-922	35	Exsudato conjunctival. Keratite do O. E. Paresia dos membros posteriores.		25-XII-922	72	Esta cadella fôra inoc. em 3-VIII-922 com sangue filtrado em vela Berkfeld do cão 40, não tendo apresentado symptomas nem Shizot. no sangue.
16	53	cão de rua adulto ♀	sangue do cão inoc. 41	16-VIII-922	tatú	5-IX-922	21	27-X-922	41	Fraqueza dos membros posteriores. Emagrecimento. Melhoras, tendo se restabelecido parcialmente, da paresia restando leve atrophia.				
17	54	fox-terrier ♂	sangue do cão inoc. 41	16-VIII-922	tatú	25-IX-922	40	25-IX-922	40	Paresia dos membros posteriores que se accentua mais no membro direito. Restabeleceu-se.				
18	55	cão de rua adulto ♀	sangue de cobaya	30-I-923	tatú	8-II-923	9	14-III-923	44	Emagrecimento. Paralysia dos membros posteriores. Progressão da paralysia e app. de ataques convulsivos. Febre no 7º. dia, temp. 40º,2C.	sacrif.	17-III-923	47	Esta cadella foi inoculada a 16-VIII-922 com 20 c.c. de filtrado de sangue e systhema nervoso do cão 41, não tendo tido symptomas de staup, nem paralysia. Posteriormente inoculada com *Shizotrypanum*, apresentou paralysia.
19	56	cão de rua adulto ♂	sangue cão inoc. 29	16-VIII-922				7-XII-922	112	Paralysia.	morte	13-XII-922	130	
20	61	dinamarquez adulto ♂	sangue de cobaya inoculada com sangue do cão inoc. 23	16-VIII-922	tatú	2-IX-922	17	13-XI-922	28	Paralysia. Emagrecimento Edemas. Tardiamente paresia dos membros posteriores.	sacrif.			
21	62	cão de rua adulto ♀	sangue inoc. 44	16-VIII-922	tatú			18-IX-922	33	Titubeação. Paresia dos membros. Movimento de manejo para a esquerda. Tremores. Afastamento dos membros para manter equilibrio. Accentuação rapida da paralysia.				
22	66	cão de rua adulto (velho) ♂	Emulsão de sangue de cão inoc. 44	6-IX-922				27-X-922	31	Paresia dos 4 membros. Titubeação, impossibilitando quasi de se manter de pé.				Um cãosinho inoculado a 27-X-922 com sangue deste cão apresentou Shizotrypanum no sangue
23	69	cão de rua adulto ♂	sangue do cão 44	6-IX-922	tatú	26-IX-922	20	12-IX-922	36	Paresia do m. posterior direito, attingindo depois o membro anterior. Secreção muco-purulenta das conjunctivas. Keratite dupla. A paralysia accentua-se principalmente nos membros posteriores.	sacrif.	11-XII-922	96	
24	121	adulto ♂	sangue de cão jovem	23-VI-923	tatú	5-VII-923	12	24-VII-923	29	Paralysia.	morte	25-VII-923	30	
25	143	cão de rua adulto ♂	sangue de cão jovem	15-I-924	tatú	24-I-924	9	15-II-924	30	Titubeação, difficuldade em manter-se de pé. Fraqueza dos 4 membros.	morte	17-II-924	33	Não aproveitado.
26	148	cão de rua adulto ♀	sangue de cobaya	6-II-924	tatú	16-II-924	10	1-III-924	24	Titubeação. Fraqueza dos membros posteriores. Olhos lamelentos. Aspecto doentio.	morte	3-III-924	26	Não aproveitado.
27	149	cão de rua adulto ♀	sangue de cobaya	6-II-924	tatú	16-II-924	10	8-III-924	31	Marcha titubeante. Accentua-se a titubeação. Paresia dos membros anteriores. Os signaes se aggravam rapidamente.	sacrif.	10-III-924	33	
28	152	Fox-terrier adulto ♀	sangue do cão 143	15-II-924	tatú	1-III-924	15	6-III-924	20	Paralysia. Convulsões; fraqueza dos membros. Marcha titubeante.	morte	9-III-924	23	Esta cadella vinda da Limpeza Publica na mesma remessa do cão nº. 143, manteve-se sempre de bôa saude até a inoculação.
29	153	cão de rua adulto ♂	sangue do cão 152	1-III-924	tatú	19-III-924	18	25-III-924	24	Emagrecimento. Titubeação, paresia. Catarrho occular. Keratite. Augmento da paralysia e do catarrho occular.	morte	2-III-924	32	
30	154	cão de rua adulto ♂	sangue do cão 152	1-III-924	tatú	19-III-924	18	25-III-924	18	Catarrho occular. Paresia. Titubeação. Keratite. Paresia dos 4 membros, mais accentuada nos posteriores. Os mesmos symptomas do 153, mas menos intensos.				Este cão se restabeleceu pelo desapparecimento gradual dos symptomas. Restava apenas leve paresia dos membros posteriores. 5 mezes antes fôra inoculado com doses progressivas de material de staup.
31	158	cão de rua adulto ♀	sangue do cão 154	11-IV-924	tatú	30-IV-924	19			Paralysia. Keratite. Sarna com ulcerações cutaneas.	sacrif.	30-V-924	49	Photographado a 29-V-924. A paralysia datava de alguns dias, não sendo notado o inicio.
32	159	cão de rua adulto ♀	sangue de cão jovem	19-IV-924	tatú	30-IV-924	11	20-V-924	31	Diarrhea. Emagrecimento. Paralysia dos membros posteriores. Tendencia a manejo.	morte			
33	163	cão de rua adulto ♂	sangue do cão 158	30-V-924	tatú	7-VII-924	38	12-VII-924	42	Keratite O. D. Ulcera da região tibio-tarsica dos membros anteriores. Paresia, principalmente dos membros anteriores. Keratite O. E. e A. O. Ulcerações O. E., melhoras O. D.	morte			
34	169	cão de rua adulto ♂	sangue do cão 164	5-VII-924	tatú	29-VII-924	24			Paralysia. Titubeação. Fadiga facil. Keratite.	morte	9-VII-924	35	
35	175	cão de rua adulto jov. ♂	sangue de cão jovem	18-IX-924		25-IX-924	7	13-X-924	25	Keratite dupla. Tendencia a inclinar o corpo para a esquerda. Paralysia.	morte	15-X-924	27	
36	176	cão de rua adulto ♂	sangue de cãosinho muito infectado	20-IX-924	tatú			18-X-924 (unico da paralysia)	28	Paresia dos 4 membros; marcha incerta com queda frequente. Diarrhéa com catarrho e sangue.	morte	18-X-924	28	A morte deu-se no mesmo dia em que foi notada a paralysia.
37	178	cão de rua adulto ♂	sangue de cobaya	24-X-24	tatú	6-IX-924		23-XII-924	30	Paralysia intensa dos 4 membros. Estação de pé difficil. Queda facil durante a marcha. 25-X 924. Convulsões, paralysia accentuada. Difficilmente se mantem de pé.	sacrif.	25-XI-924	32	Este cão foi inoculado com Shizot. no mesmo dia que outro. Este ultimo não teve paralysias.
38	182	cão de rua adulto ♀	sangue de cãosinho muito infectado	26-XII-924	tatú			27-I-925	32	Keratite esquerda intensa; keratite leve direita. Titubeação; leve paresia dos membros posteriores. 28—I: os mesmos symptomas mais accentuados. 29—I: idem. 4—II: vivaz; regularmente nutrido.	vivo	—	—	Este cão teve uma ulcera no ponto de inoculação por ter sido a inoc. feita com material de um cãosinho morto (infecção cadaverica).
39	189	cão de rua adulto ♂	sangue de cobaya	8-I-925	tatú	16-I-925		28-I-925	20	Paralysia dos 4 membros. Keratite leve; leve turvação da cornea com catarrho occular. A paralysia tem-se accentuado, mantendo-se quasi sempre deitado. Paralysia muito accentuada, entrando em coma	sacrif. (chloroformio)	3-I-925	26	Esta cadella pariu no dia 3 pouco antes de ser sacrificada, dois embryões já macerados.

gentica pelo methodo de BIELCHOWSKY.

IV) O formol—brometo de ammonio foi utilisado como fixadôr posterior para a impregnação pelo ouro sublimado, methodo de CAJAL.

V) O material fixado em formol a 10 % serviu para as colorações pelos methodos I—IV e VI de ALZHEIMER, de LHERMITTE para a nevroglia fibrillar, de WEIGERT—PAL e WRIGHT para a myelina e para a coloração corrente pela hematoxylina—eosina.

Dos 39 cães de nossas observações, 11 foram submettidos a exame microscopico detido e pormenorizado. Eram cães mortos quer naturalmente quer sacrificados pelo chloroformio, e nos quaes a molestia tivera duração variavel.

E' sobre a base do exame do systema nervoso destes 11 cães, submettido a technicas variadas, que assenta a descripção do processo histo-pathologico e as conclusões que julgamos licito estabelecer.

SYMPTOMATOLOGIA.

Ao apparecer o *schizotrypano* no sangue peripherico inda não ha, em geral, symptomas apreciaveis.

Os signaes só se mostram cerca de 20 dias após a inoculação: inappetencia, emagrecimento, tristeza.

A's vezes secreção conjunctival muco purulenta e keratite (v. Fig. 6. Est. 40). Tambem não é raro o apparecimento de diarrhéa com catarrho muco-sanguinolento.

Em alguns casos edema, ás vezes intenso.

Os symptomas nervosos são precoces. Com o emagrecimento e a tristeza surgem desordens na marcha que é tropega, mal firme, com queda facil e astasia accentuada (v. Fig. 1, Est. 38). A fraqueza se define em verdadeira paralysia (v. Fig. 7, Est. 41), que evolve rapidamente até a paralysia completa dos quatro membros e o animal jaz inerte no solo (v. Fig. 8, Est. 41), preso em geral de dyspnéa intensa.

A paralysia ataca de preferencia os membros posteriores (v. Fig. 4, Est. 39), onde pode localizar-se, em ambos ou em só um delles. Mais raramente domina nos membros anteriores.

A' marcha tropega, se une a titubeação e a incoordenação cerebellares; a marcha é em zig-zag. Outras vezes ha tendencia a movimento circular para um lado, ou á queda, sempre para o mesmo lado, para onde tem voltada a cabeça. Frequentes as convulsões tonicas, clonicas (v. Fig. 2, Est. 38 e fig. 3, Est. 39). por accessos seguidos de coma. E' notavel em alguns casos a atrophia dos musculos paralyticos.

A paralysia é em geral rapidamente engravescente e a morte se dá no fim de poucos dias. Casos, ha, porém, em que se protrae por algum tempo, com alternativas de melhoras e peioras, e outras raras em que se termina pela cura com recuperação dos movimentos e bom estado geral.

Os esphincteres não são atacados, a julgar pela ausencia de incontinencia de fézes e de urina.

A paralysia se mostra mais commummente entre os 25 e 35 dias e é entre os 30 e 40 dias que a morte se dá na maioria dos casos.

Nas ultimas inoculações, com a repetição das passagens, ha tendencia a se fixar mais o praso do apparecimento da paralysia, o qual é encurtado.

Sobe a 39 o numero de animaes inoculados que se apresentaram paralyticos e delles apenas dous se restabeleceram.

O quadro annexo dá resumidamente a observação dos 39 cães paralyticos pondo em evidencia os factos mais interessantes.

DIAGNOSTICO DIFFERENCIAL.

Conhecida a disseminação da «*canine distemper*» e da fórma paralytica dessa molestia, é natural que o nosso primeiro cuidado fosse verificar se nos animaes observados não haveria associação do «*staupe*» á schizotrypanose.

Os cães em experiencia, abrigados em casinholas individuaes, eram alojados em terreno proximo ao Hospital OSWALDO CRUZ (v. Fig. 9, Est. 42).

Como referimos atráz, eram animaes adultos capturados pela Limpeza Publica nas ruas da cidade do Rio do Janeiro. Neste canil mantinhamos animaes inoculados com schizotrypano, sendo outros, não inoculados, deixados como testemunhas; nunca observamos a paralysia nesses animaes testemunhas, o que seria o caso si se tratasse de um recente ataque de «*canine distemper*», de virulencia especial que fôsse endemica no nosso canil, ou de qualquer outra epizootia; esses mesmos animaes testemunhas eram, mais tarde, inoculados com schizotrypano e só então vinham a apresentar paralysia a qual, em animaes inoculados, sobrevem regularmente dentro de 1 mez, mais ou menos.

Não obstante essas observações fizemos ainda as seguintes experiencias.

Exp. I—Com material do systema nervoso central de um cão que, inoculado com schizotrypano, apresentava-se paralytico (cão nº. 44), injectamos por via intracraneana 4 coelhos; o coelho é sensivel ao virus do «*canine distemper*». Um dos coelhos morreu ao 4º dia e outro ao decimo dia. Dois sobreviveram. Nenhum delles apresentou catarrho nasal ou ocular, ou paralysia.

Exp. II—Com material do systema nervoso central de um cão que, inoculado com schizotrypano, apresentava-se paralytico (cão nº. 44), injectamos (a 6—IX—922) por via subcutanea um cão pequeno, creado no laboratorio ao abrigo de contaminação por «*canine distemper*». Até 13 dias depois (19-IX-922) não apresentou catarrho nasal ou ocular, nem tosse, nem signaes nervosos que indicassem «*canine distemper*». A 19—IX—922, encontramos o schizotrypano no sangue peripherico, sendo os parasitos muito abundantes a 28—XI—922; a 31—1—923, morte em convulsões.

Exp. III—Uma ninhada de 3 cães de 15 dias de edade (edade optima para contrahir «*staup*») soffreu a pincelagem do focinho e das fossas nasaes com o muco nasal de um cão que, inoculado com o schizotrypano, apresentava-se paralytico (cão nº. 44).

Sobreviveram sem apresentar symptomas de «*canine distemper*».

Exp. IV—Deixamos em contacto immediato, com uma cadella, que inoculada com schizotrypano, apresentava-se paralytica (cão nº. 67) e com cães da inocul. 89, a partir do dia 9—XI—1922, uma ninhada de 4 cãesinhos de menos de 8 dias de edade, juntamente com a cadella-mãe.

Estes cãesinhos nada apresentaram de anormal até 22—XI—922. Nesta data, dois delles (nº. 3 e 4) foram injectados com sangue de um outro cão jovem (nº. 5 da inoc. 89) encerrando o schizotrypano. A 27—XI—922, os cães 3 e 4 apresentaram schizotrypano no sangue peripherico. A 4—XII—922, o nº. 3 achava-se muito emmagrecido, e o nº. 4 amanheceu morto.

Os dois não inoculados achavam-se em bôa saude. A 5—XII—922 o nº. 3 era bastante emagrecido, somnolento, indifferente, sem paralysia; no sangue encontra-se numerosos schizotrypanos. Foi sacrificado. Até 15—XII—922 os não inoculados nada apresentaram de anormal, a não ser abcesso na perna do nº. 1.

Exp. V—A 16—VIII—1922 inoculamos uma cadella adulta com 20 c. c. de filtrado em vela BERKFELD de sangue de um cão que, inoculado com schizo-

trypano, apresenta-se paralytico (cão nº. 41).

Até 30—I—1923 não apresentou paralysia, nem catarrho das mucosas, e a pesquiza do schizotrypano no sangue foi negativa.

Nessa data (30—I—923), portanto cinco mezes e meio após a primeira inoculação com o filtrado, e vivendo sempre em contacto com outros cães paralyticos, foi injectada com 5 c.c. de sangue de uma cobaya (inoc. 109) encerrando o *Schizotrypanum cruzi* (raça do «tatú»).

A 8—II—923 apresenta o schizotrypano no sangue peripherico.

A 11—III—923 emmagrecimento; paralysia dos membros posteriores.

A 17—III—923 a paralysia tem-se accentuado. Ataques convulsivos. Sacrificada nessa data. O exame histologico revelou no systema nervoso lesões com a presença do schizotrypano. Esta cadella figura no quadro com numero 55.

Exp. VI—Um cão adulto foi hyperimmunizado contra o «*canine distemper*» a fim de fornecer sôro «anti-staup». (Dr. O. C. MAGALHÃES).

O animal não apresentou paralysia; cinco mezes depois, nos foi cedido pelo referido medico. Foi então por nós inoculado com 2 c.c. de sangue de uma cadella paralytica (cão nº. 152). Este animal ficou em seguida paralytico, sendo incluido no quadro annexo a este trabalho com a indicação de cão inoc. 154.

Das experiencias precedentes deduz-se que a pesquiza do *virus* da «*canine distemper*» feita pela inoculação do systhema nervoso central de cães paralyticos a animaes sensiveis (coelho, cão novo ainda não contaminado) resultou negativa.

Levando em conta que a «*canine distemper*» é provocada por um *virus* filtravel, as referidas experiencias demonstraram que a inoculação de filtrado do sangue de um cão paralytico a outro cão adulto, teve resultado negativo: o animal não adquiriu egualmente infecção pelo schizotrypano. Inoculado em seguida, com sangue de cobaya com schizotrypano, o cão apresentou paralysia no prazo normal e no systema nervoso, o exame histo-pathologico revelou lesões com a presença do parasito.

Ainda mais, a pincelagem do muco nasal de cães paralyticos (material altamente virulento para «*canine distemper*») não provocou «*staup*« em cães de dias de edade e portanto em periodo onde são altamente sensiveis á «*canine distemper*»; o mesmo acontece quando se deixam em contacto prolongado com cães paralyticos, cães de poucos dias de edade.

ANATOMIA PATHOLOGICA.

EXAME MACROSCOPICO.

O exame macroscopico do systema nervoso central deu sempre resultados negativos; nem edema, nem congestão, nem hemorrhagia, quer meningea, quer parenchymatosa.

Apenas em um caso foram notados edema e congestão com turvação das meninges, mas, como havia infecção secundaria associada, proveniente de ulceras infectadas, a excepção não infirma a regra.

LESÕES MICROSCOPICAS.

I — ALTERAÇÕES INFLAMMATORIAS.

As lesões da encephalo-myelite são essencialmente constituidas por pequenos focos, que apresentam sempre relações de visinhança com precapillares ou capillares, distribuidos sem predilecção evidente, pela substancia branca e cinzenta do cerebro e da medulla espinhal; o cerebello é mais raramente attingido; quando nelle encontrados, os fócos mostram igualmente, uma ausencia de predilecção por qualquer camada, tendo sido encontrados na camada molecular,

na dos pequenos grãos e na substancia branca.

A constituição desses focos necessariamente varia com a idade respectiva de cada um delles; em geral, os focos apresentam caracteristicas uniformes, em determinado cão, denotando um inicio contemporaneo.

Os focos que nos parecem achar-se em phase inicial são formados por cellulas relativamente volumosas, contendo um nucleo quasi sempre excentrico arredondado ou ligeiramente incurvado com a chromatina disposta sob a fórma de granulos bem distinctos, com cytoplasma volumoso apresentando pseudopodos, e cuja morphologia corresponde assim, sob todos os respeitos, ao macrophago, polybasto ou leucocyto endothelial (v. Fig. 29, Est. 51). Nestes focos ainda são encontrados lymphocytos e, sobretudo, cellulas plasmaticas, em geral proximo aos vasos. Observando preparações pelos methodos communs obtem-se uma falsa ideia do papel da cellula plasmatica no processo que estudamos, pois parecerá algum tanto rara; o mesmo não acontece examinando os preparados pelo methodo de UNNA—PAPPENHEIM (methyl-grün-pyronina); então nota-se a frequencia de cellulas plasmaticas no exsudato; isso é principalmente verdadeiro quando se considera o processo de leptomeningite, no qual a infiltração perivascular por cellulas plasmaticas, nos preparados pelo UNNA-PAPPENHEIM é uma bella constatação microscopica (v. Fig. 17, Est. 47, e Fig. 20 a 23, Est. 49); devemos dizer, porém, que nunca, nos focos, constituem o elemento cellular dominante, tal como SPIELMEYER verificou na molestia do somno.

Nos focos constituidos por cellulas relativamente pouco numerosas (6—15 em um campo microscopico de um córte histologico) o schizotrypano é encontrado raramente; não ha desintegração da substancia nervosa, nem hemorrhagias.

Estes macrophagos que referimos como presentes nos focos devem ser originarios, em parte, de elementos vindos do sangue (macrophagos «mesodermicos», leucocytos endotheliaes), o que não é possivel deixar de reconhecer, em vista das relações estreitas de visinhança entre os focos e as lesões vasculares (v. Fig. 10, Est. 43 e Fig. 13, Est. 45); certas particularidades nos levaram, porém, a lhes attribuir, em grande parte, uma outra origem. Com effeito, é um phenomeno que póde ser verificado com muita regularidade e consignado em grande escala no nosso material, a transformação desses macrophagos em cellulas granulo-adiposas («körnchenzellen», «gitterzellen", «Abräumzellen"), bem caracteristicas pelo seu conteúdo adiposo em preparados pelo scharlachrot (v. Fig. 18 e 19 Est. 48) e pelo methodo VI de ALZHEIMER (v. Fig. 25, Est. 50).

Trabalhos recentes, notadamente os de RIO HORTEGA, de METZ e SPATZ e de PENFIELD indicam que essas cellulas granulo-adiposas são em grande parte originarias da «microglia», uma das especies cellulares que HORTEGA distingue como uma das cellulas que faz parte do «terceiro elemento» da neuroglia.

Parece-nos provavel que no processo ora estudado, no qual as cellulas granulo-adiposas em determinado periodo da lesão são encontradas nos focos de modo constante, tenham ellas a mesma origem admittida pelos autores supracitados, isto é, sejam derivados da microglia; macrophagos microglicos, poder-se-iam chamar.

Carecendo ainda de demonstração directa, que poderá ser feita pelo methodo de RIO HORTEGA, cuja applicação no caso é indicada, alguns factos de nossa observação affirmam a hypothese emittida.

Assim, logo de começo, a ausencia do schizotrypano com a morphologia de corpusculo leishmaniforme no plas-

ma dos macrophagos (leucocytos endotheliaes) encontrados na infiltração das leptomeninges, contrastando com a abundancia do parasito nos macrophagos dos focos da substancia nervosa, em cujo plasma se localiza habitualmente, impressionou-nos e fez-nos suspeitar de que os macrophagos da substancia nervosa eram de natureza diversa da dos macrophagos mesodermicos, ou leucocytos endotheliaes.

A julgar pela quantidade de parasitos (corpusculos leishmaniformes) encontrados com a morphologia normal no interior destes macrophagos (microglicos) onde soffrem uma evolução evidente até tornarem-se fusiformes e attingirem á fórma flagellada, é de suppôr que o parasito encontre ahi condições de vida muito favoraveis, facto semelhante ao que acontece com o B. da lepra na cellula leprosa.

Em contraste ainda com este parasitismo abundante e favoravel ao parasito que se nota no macrophago da substancia nervosa ha a notar que os macrophagos que com algumas cellulas plasmaticas constituem o exsudato da myocardite schizotrypanosica, em geral não são parasitados, e quando o são, albergam pequeno numero de schizotrypanos; estes mostram então alterações degenerativas, que bem indicam a acção destruidora destes macrophagos sobre elles.

Em focos mais adiantados, a transformação dos macrophagos em cellulas granulo-adiposas é generalisada; ellas ahi predominam francamente. Ha então evidente desintegração da substancia nervosa que pode ser avaliada pela formação de fissuras ou cavidades na substancia fundamental; as cellulas granulo-adiposas podem ser muito bem apreciadas nos preparados pelos methodos I e VI de ALZHEIMER.

Correspondendo a uma evolução mais adiantada do foco de encephalomyelite, nota-se uma «dispersão» das cellulas granulo-adiposas; o foco, de dimensões consideraveis, mostra limites indistinctos, sendo impossivel precisar-lhe o contorno; a figura corada pelo scharlach-roth dá bem idéia do aspecto obtido (v. Fig. 13 Est. 48).

Os focos mais antigos que pudemos observar eram formados por elementos de nucleo fusiforme, alongado, com o protoplasma ramificado e que pareceram-nos corresponder á nevroglia fibrosa; não são encontrados então, macrophagos e os schizotrypanos ahi raramente existem.

ALTERAÇÕES VASCULARES.

As alterações inflammatorias compromettem igualmente os vasos encephalo-medullares, os quaes participam activamente do processo de encephalomyelite que estudamos. As alterações vasculares progressivas, comprehendidas por uma nova formação vascular real ou apparente, não são feição proeminente no processo ora estudado.

De facto, observando com fraco augmento os pontos mais lesados (v. Fig. 11 Est. 44) do eixo encephalico, os pequenos vasos apparecem muito mais proeminentes do que em condições normaes; mas tal facto resulta simplesmente da existencia de uma infiltração perivascular ou lymphatica de taes vasos e não de um augmento numerico.

As alterações vasculares mostram notavel constancia nas relações de visinhança com os focos encephalomyeliticos, qualquer que seja a idade do fóco; nota-se a infiltração, ora da adventicia, ora desta e da bainha lymphatica, ora mesmo invadindo o parenchyma e constituindo infiltração perivascular. As cellulas da infiltração, macrophagos, lymphocytos e cellulas plasmaticas, alojam-se a principio na bainha adventicia dos vasos e o espaço lymphatico mostra-se então como um halo claro em torno de taes vasos. Progredindo, ou sendo mais vio-

lenta a inflammação, os proprios espaços lymphaticos são invadidos por cellulas exsudadas, entre as quaes sempre predominam macrophagos (v. Fig. 13 Est. 45). Raramente se encontram parasitos (*Schizotrypanum cruzi* com a morphologia de corpusculo leishmaniforme) no interior de taes macrophagos da infiltração da adventicia ou dos espaços lymphaticos dos vasos, o que fórma evidente contraste com o parasitismo intenso muitas vezes verificado nos macrophagos (microglicos ?) dos focos de encephalo-myelite.

Essa infiltração vascular nunca se apresenta sob o aspecto de disseminação diffusa, tal como se observa na doença do somno, ou em certas zonas do systema nervoso central na encephalite lethargica; é circumscripta, em determinado córte histologico, a um ou outro vaso e a determinado segmento deste vaso, e sempre apresenta relações de visinhança com um fóco de encephalo-myelite.

Outra alteração que não é raro observar nos pequenos vasos situados nas margens ou na espessura dos focos, consiste na proliferação do endothelio e na obliteração parcial ou completa de sua luz.

II—ALTERAÇÕES DA CELLULA NERVOSA.

As cellulas de PURKINJE do cerebello e em seguida, as grandes pyramidaes da cortex, são as cellulas que mais commummente apresentam alterações.

As lesões das cellulas de PURKINJE em certos animaes são de tal modo intensas que logo suggerem uma associação entre taes lesões e perturbações do equilibrio que são um symptoma dos mais impressionantes e precoces nos cães infectados.

As lesões das cellulas de PURKINJE constam de uma tumefacção e arredondamente da cellula, com chromatolyse perinuclear e alterações nucleares importantes como desapparecimento da membrana nuclear, tumefacção e vacuolisação do nucleolo; em outros casos a celluía é diminuida, retrahida, e os prolongamentos podem ser seguidos em grande extensão (v. Fig. 31, Est. 51).

Estas lesões são verificadas ás vezes em uma serie de cellulas de PURKINJE visinhas. e não nas cellulas seguintes, ou só são vistas nas de um determinado folheto.

As lesões das cellulas pyramidaes constam igualmente de chromatolyse; outras lesões communs na cortex são as figuras de neuronophagia.

As cellulas multipolares da medulla são em geral bem conservadas; é, até, um phenomeno curioso a verificação que pudemos fazer, em alguns casos, de uma cellula nervosa da medulla a qual embora situada na visinhança immediata de focos de myelite, mostrava a imagem normal dos granulos chromophilos de NISSL.

III—ALTERAÇÕES DA NEVROGLIA.

Não nos referiremos aqui, visto que já o fizemos atráz, ás alterações da *microglia*, uma das especies cellulares que é comprehendida sob a designação de «terceiro elemento» da nevroglia.

Essas cellulas, «as mais numerosas dos centros encephalicos depois da cellula nervosa», no dizer de HORTEGA, são a origem mais frequente das cellulas granulo-adiposas, as quaes, em menor escala, podem ser derivadas tambem de elementos mesodermicos ou mesmo da nevroglia *fibrosa* (astrocytos).

Assim sendo, as alterações da microglia no sentido de uma intensa transformação em cellulas granulo adiposas, são de uma importancia consideravel, quiçá o facto pathologico mais impressionante no processo de encephalo-myelite provocado pela schizotrypanose experimental (v. Fig. 13, Est. 48, e Fig. 20, Est. 49).

As cellulas da nevroglia protoplasmatica são augmentadas de numero e de tamanho na visinhança dos focos (v. Fig. 15-16, Est. 46); esses elementos permanecem isolados, e como que delimitando o foco. Tambem, no nosso material, encontramos cellulas da nevroglia soffrendo transformação ameboide, como demonstram as figuras.

Nas figuras 25 e 26 Est. 50 desenhamos cellulas da nevroglia ameboide coradas pelo methodo IV de ALZHEIMER; a fig. 27 Est. 50 nos mostra uma dessas cellulas coradas por esse methodo especifico, a qual encerra parasitos. O *Schizotrypanum cruzi* é assim encontrado, no systema nervoso central, ora no interior de macrophagos (microglicos ?), o que é o caso mais commum (v. Figs. 28, 33, 34 e 36, Est. 51), ora mais raramente, no interior de cellulas da nevroglia ameboide (v. Fig. 27, Est. 50).

IV—ALTERAÇÕES DAS MENINGES.

A dura-mater mostra uma estructura normal toda a vez que a pudemos examinar, o que foi quasi sempre em córtes da medulla espinhal; macroscopicamente já foi assignalada a ausencia de hemorrhagias (pachymeningite hemorrhagica) nesta membrana.

As leptomeninges são, ao contrario, frequentemente séde de inflammação discreta, e por vezes (principalmente ao nivel do cerebello), de caracter hemorrhagico.

Nunca, esta leptomeningite abrange grande extensão, sendo em cada córte, geralmente verificada em um ou outro ponto do preparado. Em nenhum caso vimos uma leptomeningite purulenta.

O quadro geralmente encontrado apresenta-se como uma infiltração das malhas das leptomeninges, em zonas pouco extensas, por um exsudacto mononuclear, no qual predomina incontestavelmente o macrophago mesodermico (leucocyto endothelial); de mistura com esses elementos encontram-se lymphocytos, cellulas plasmaticas, e, por vezes, tambem, como atráz dissemos, hematias.

São mais extensas as lesões dos vasos das leptomeninges, não sendo difficil, em córtes longitudinaes da medulla espinhal, seguir em grande extensão a mesma arteriola ou venula, cuja adventicia é consideravelmente infiltrada por macrophagos e cellulas plasmaticas (v. Figs. 21 e 22, Est. 49).

Em alguns casos, as lesões das leptomeninges são encontradas em face de um foco de encephalo-myelite collocado superficialmente, como se houvesse uma propagação directa da inflammação. Geralmente, não parecem depender da inflammação da substancia nervosa; isso é especialmente verificado no cerebello, onde os fócos são geralmente raros ou inexistentes e, no entanto, a leptomeningite, ás vezes, leptomeningite hemorrhagica, é commum.

Devemos referir aqui a verificação que fizemos em um preparado de medulla espinhal, da existencia de focos com macrophagos e *Schizotrypanum* no tecido de uma das raizes anteriores.

O processo de leptomeningite que apresentam os cães é exactamente semelhante, no que diz respeito á sua constituição cellular e distribuição, ao que verificamos em alguns casos humanos da fórma aguda da molestia de CHAGAS, a não ser a natureza hemorrhagica da lesão que no material humano nunca observamos.

Reproduzimos abaixo os protocollos de alguns cães escolhidos em periodos diversos de evolução do processo, os quaes servirão de justificativa para a descripção geral que atráz fizemos.

Cão n. 23 (*)

Sacrificado no 53o. dia de molestia

Córte I—*Medulla espinhal* (hematoxylina-eosina)—O córte mostra numerosos focos quer na substancia bran-

(*) V. no quadro annexo as indicações sobre o prazo da infecção e sua evolução.

ca, quer na substancfa parda. Contamos de um lado 7 focos na substancia branca e 5 na cinzenta, de outro lado, 1 foco na substancia branca e cerca de 5 na cinzenta. Na substancia parda os focos occupam principalmente os cornos anteriores; os seus limites são pouco precisos, e sendo proximos uns dos outros, as alterações exsudactivas adquirem um caracter diffuso. As arteriolas, mesmo na substancia parda, mostram uma infiltração accentuada mononuclear dos espaços lymphaticos. A abundancia de parasitos nos focos é notavel. As leptomeninges mostram uma infiltração discreta, sem caracter perivascular; na visinhança immediata das arteriolas não se reconhece infiltração.

Nos focos predominam as cellulas granulo-adiposas («gitterzellen»), em cujo plasma bem como no de macrophagos, são contidos os schizotrypanos.

Córte II—Medulla espinhal (hemaxylina-eosina) -5 focos na substancia branca, cerca de 7 na substancia cinzenta, muitos contiguos e difficilmente individualizaveis: «gitterzellen», macrophagos, numerosos parasitos. Leptomeninges integras, canal do ependymo normal.

Córte III—Medulla espinhal (methodo da hematoxylina phosphomolybdica, com fixação na *Gliabeize* de Weigert+formol).

Multiplicação de cellulas da nevroglia, algumas attingindo grandes dimensões em torno dos focos. As cellulas granulo-adiposas apparecem muito bem por este methodo. São reconhecidas cellulas da nevroglia ameboide; algumas encerram os schizotrypanos.

Córte IV—Cerebro—cortex (hematoxylina-eosina)—Não ha infiltração cellular das leptomeninges as quaes parecem normaes. Na substancia nervosa podemos contar cerca de 9 focos distinctos; acham-se situados na porção mais interna da substancia cinzenta e na substancia branca, e na visinhança immediata de pequenos vasos.

Córte V—Cerebro—cortex (H .E.)—14 pequenos focos sobretudo abundantes na camada mais profunda da cortex (camada das c. polymorphas?) e na substancia branca. Nenhuma na camada das cellulas pyramidaes. Os focos são todos de pequenas dimensões. Em um foco maior as cellulas são macrophagos e cellulas granulo-adiposas, o parasito, sob a fórma de corpusculo leihmaniforme, existindo no interior de muitos elementos: *cado macrophagos no campo, encerra o schizotrypano.* A infiltração dos vasos é perivascular e da bainha lymphatica, mas não pronunciada. Em certos pontos da substancia branca parece haver uma infiltração diffusa discreta. Um dos focos fica em contiguidade com a bainha lymphatica de um precapillar, sendo notavel pela quantidade de parasitos que encerram os macrophagos (seguramente aqui *leucocytos endothelias* ou *cellulas da adventicia).* Leptomeninges sem alterações.

Córte VI—Cerebro (corno de Ammon)—(H. E.)—5 focos, 4 na substancia branca e 1 na cinzenta; os maiores mostram numerosos «*gitterzellen*»; os menores encerram macrophagos em cujo interior são vistos parasitos. Infiltração da bainha lymphatica dos vasos unicamente nos focos. Leptomeninges sem alterações.

Córte VII—Cerebro (corno de Ammon)—(H. E.)—4 grandes focos, com edema em torno e desintegração da substancia nervosa; encerram numerosas cellulas granulo-adiposas e cellulas plasmaticas, em cujo interior são encontrados parasitos em abundancia; em algumas destas cellulas podemos contar 60—70 parasitos com a morphologia de corpusculo leishmaniforme. Os focos parecem achar-se no periodo de diffusão das cellulas granulo-adiposas; nesses focos grandes são vistos não raros polymorphonucleares.

Córte VIII—cerebello (H. E.)—3 focos na camada molecular, focos pequenos formados por macrophagos encerrando numerosos parasitos.

Córte IX—cerebello (methodo de UNNA-PAPPENHEIM)—Nota-se a infiltração dos vasos das leptomeninges por cellulas plasmaticas.

Cão n. 10.

Córte I—Medulla espinhal (entumecimento—H. E.)—4 focos na substancia branca, 2 no limite do corno anterior com a substancia branca, e um, menor na substancia cinzenta; as lesões são nitidamente unilateraes.

O foco mais extenso da substancia branca (attingindo a peripheria) mostra limites pouco nitidos, com evidente desintegração da substancia nervosa, sendo essencialmente constituido por cellulas granulo-adiposas, entre as quaes se veem grandes cellulas da nevroglia ramificadas (?). Os outros focos, tambem extensos, são formados por macrophagos e cellulas plasmaticas; são raras as cellulas com aspecto de «*gitterzellen*». Existe evidente relação entre os focos e os vasos; infiltração dos espaços lymphaticos na visinhança dos focos Os vasos (capillares) no foco mais extenso tornam-se muito apparentes devido á infiltraç ão dos espaços lymphaticos; alguns mostram tumefacção do endothelio de revestimento e obliteração parcial da luz do vaso; não se vê com nitidez nova formação vascular por gemulação. As cellulas plasmaticas se encontram com facilidade no exsudacto, quer nos espaços lymphaticos, quer nos focos: nestes, depois dos macrophagos que constituem evidentemente o elemento cellular dominante, são as cellulas mais frequentemente vistas: nos focos mais antigos, onde as «*gitterzllen*» predominam, as cellulas plasmaticas são raras.

Não ha alterações inflammatorias diffusas.

As leptomeninges e dura-mater são mal apreciadas no córte; em face do grande foco peripherico da substancia branca, existe infiltração cellular das leptomeninges. O canal do ependymo é livre; não ha multiplicação cellular.

As cellulas nervosas, tanto quanto se possa apreciar pelo methodo, mostram a estructura conservada.

Não encontramos parasitos nos focos (pesquizados em 3 córtes deste bloco).

Córte II—Cerebello (H. E.)—Não encerra focos, nem se nota infiltração perivascular. As leptomeninges mostram congestão e em certos pontos. as suas malhas são infiltradas por mononucleares (macrophagos e lymphocytos) e hematias. As alterações das cellulas de PURKINJE tanto quanto se possa julgar pelo methodo usado, existem, mas são raras.

Corte III—Cerebro (cortex—H. E.)—Não encerra focos. Não ha infiltração perivascular; alguns precapillares mostram-se cheios de mononucleares, semelhando o aspecto visto em cortes histologicos de um caso de leucemia; os espaços lymphaticos dos mesmos vasos são livres; este aspecto leucemico do sangue não é presente de modo uniforme, em todos os vasos, sendo encontrados no mesmo córte, outros vasos em cujo interior predominam as hematias. O mesmo aspecto leucemico do sangue mostram os pequenos vasos das leptomeninges; em suas proprias malhas, o exsudacto cellular é muito raro.

Cão n. 11.

Sacrificado

Corte I=Medulla (entumecimento—(H. E.)—Os focos são assestados em uma das metades da medulla, contando-se 7, quatro dos quaes na substancia cinzenta e os demais nos limites da substancia branca com a cinzenta e em plena substancia branca. Os focos são muito extensos e acompanhados de perda evidente de substancia nervosa. As cellulas que nelles predominam são cellulas granulo-adiposas («*gitterzellen*»); nas margens do foco, de mistura com *gitterzellen* encontram-se macrophagos e cellulas plasmaticas, as quaes, porém, nos focos, nunca são elemento predominante. Nos vasos (precapillares) situados junto dos focos nota-se uma consideravel infiltração do espaço lymphatico; as cellulas ahi predominantes, são cellulas plasmaticas e lymphocytos.

Em determinado ponto, vasos proximos infiltrados e focos antigos simulam ao primeiro exame, alterações inflammatorias diffusas, as quaes de facto, não occorrem.

As leptomeninges mostram infiltração cellular de suas malhas, a qual é circumscripta e apresenta relações de visinhança com focos situados na peripheria da substancia branca; as lesões das meninges representam, talvez, propagação do processo de myelite. Dura-mater normal.

Nos focos extensos que acabamos de descrever, a pesquiza insistente do *Schizotrypanum cruzi* foi negativa.

Córte II—Medulla dorsal (H. E.)—17 focos esparsos indistinctamente pelas substancias branca e cinzenta. Os focos são mais numerosos, porém menos extensos que os do córte I, em nenhum notando-se perda evidente de substancia nervosa. Os focos são constituidos principalmente por macrophagos; o aspecto de «*gitterzellen*» existe, mas não é commum. Em alguns dos focos encontra-se o *Schizotrypanum cruzi* (corpusculo leishmaniforme), formando agglomerados de dimensões por vezes, consideraveis. No esxudacto inflammatorio dos espaços lymphaticos não encontramos parasitos.

Córte III—Medulla dorsal (H. E.)—São encontrados 2 focos; focos pequenos, 2 na substancia branca, 1 na cinzenta. Os focos não contem parasitos.

Córte IV—Medulla dorsal (H. E.)—São encontrados 7 focos, alguns bastante extensos. Em um foco, vê-se alguns parasitos (2—3 corpusculos leishmaniformes) no plasma de cellulas.

Córte V—Cerebello (H. E.)—Não mostra focos inflammatorios; na substancia branca, hemorrhagias punctiformes. Os capillares e precapillares não apresentam absolutamente infiltração dos espaços lymphaticos. Apezar do methodo empregado, notam-se intensas alterações nas cellulas de PURKINJE (pycnose do nucleo, vesiculação do nucleolo, homogenisação, arrendondamento e eosinophilia do plasma).

Córte VI-Cerebro (cortex—H. E.) São aqui as lesões muito menos accentuadas que as da medulla. Vê-se na substancia branca um foco extenso com perda de substancia nervosa e outro menor; em outro ponto da substancia branca existe infiltração diffusa em determinada area, sem formar foco. Infiltração dos espaços lymphaticos unicameute nas proximidades do foco; nos demais espaços lymphaticos, nenhuma infiltração. O foco maior parece em via de desorganisação; na sua peripheria são abundantes as cellulas ramificadas (nevroglia? fibroblastos?); no centro são vistos mononucleares; as cellulas granulo-adiposas não são abundantes tal como vemos na medulla. A pesquiza do parasito (feita em 3 córtes diversos deste bloco) foi negativa.

Córte VII—cerebro (corno de Ammon—H. E.)—E' visto pequeno foco constituido por macrophagos e cellulas plasmaticas, na visinhança immediata de um capillar. Neste foco é encontrado o *Schizotrypanum cruzi*.

Cão n. 19.

Córte I—medulla espinhal (entumecimento—H. E.)—Sete focos na substancia cinzenta. 3 na substancia branca, 7 no limite entre as 2 substancias, afóra outros pouco differenciados. Os focos são de dimensões variaveis, apresentando relações de visinhança com os vasos. O foco mais extenso situado na substancia branca é formado por macrophagos entre os quaes se notam cellulas volumosas, com nucleolo evidente e plasma nitidamente ramificado (nevroglia? fibroblastos?). Não ha «*gitterzellen*» bem differenciados.

Quasi todos os focos de menores dimensões são formados por cellulas ramificadas, analogas ás que atraz assignalamos (cellulas da nevroglia fibrosa ? fibroblastos ?)[1] esses elementos predominam evidentemente sobre qualquer outro e os focos inflammatorios parecem focos antigos em cicatrização. Existem cellulas plasmaticas, não sendo porém elemento dominante. Não ha alteração inflammatoria diffusa. Dura-mater e leptomeninges sem alterações; canal do ependymo normal.

Em um dos focos menores, que parece formado por cellulas da nevroglia fibrosa ou fibroblastos, encontra-se o *Schizotrypanum cruzi* [8—10 corpusculos leishmaniformes]. Os parasitos são raros nos focos Em um outro foco os parasitos são incluidos em um macrophago, cellula que predomina nesse foco.

Córte II—cerebello [H. E.] — Não encerra focos. Não ha infiltração dos espaços lymphaticos dos vasos. Não ha alterações inflammatorias diffusas; infiltração discreta das leptomeninges por mononucleares; os seus vasos mostram infiltração da adventicia por cellulas plasmaticas.

Córte III—cerebro [corno de Ammon—H. E.]—São vistos 10 focos diversos, quasi todos superficiaes.

Os focos mostram constituição semelhante aos da medulla, parecendo focos em via de cicatrização, em quasi todos predominando cellulas da nevroglia fibrillar. Infiltração dos espaços lymphaticos dos vasos na proximidade dos focos. Cellulas plasmaticas presentes. Infiltração discontinua das leptomaninges, ás vezes, ma nem sempre, na visinhança de focos.

Cão n. 25.

Córte I—medulla espinhal [H. E.]—Tres focos pequenos na substancia branca de um lado; do outro lado um pequeno foco na substancia branca dos cordões anteriores, e um na substancia parda. Os focos são formados, de modo predominante, por macrophagos. Não encontramos parasitos. Não ha infiltração perivascular evidente.

Na substancia cinzenta, de ambos os lados, hemorrhagias punctiformes.

Córte II—cerebro [cortex—H. E.]—10 focos na substancia cinzenta; são focos pequenos formados principalmente por macrophagos, com relações evidentes com os vasos, os quaes mostram infiltração da adventicia e dos espaços lymphaticos; nos focos não ha hemorrhagia. Existe congestão. Não é raro, em alguns focos observar o fusionamento de macrophagos e a formação de uma cellula gigante. Junto de um dos focos, existe multiplicação intensa de cellulas do endothelio de um capillar e obliteração parcial de sua luz. As leptomeninges mostram em suas malhas, hematias e mononucleares, inclusive cellulas plasmaticas, o exsudato sendo mais abundante em torno dos vasos. Não encontramos parasitos nos focos, nem no exsudacto meningeano. São focos de pequena extensão parecendo de formação recente.

Córte III—cerebro /cortex—methodo de NISSL, pelo azul de toluidina/—As grandes e pequenas pyramidaes mostram alterações de NISSL em suas primeiras phases, as quaes attingem elementos isolados; a neuronophagia é tambem constatada de modo discreto.

Córte IV—cerebello [H. van GIESON]—Encontra-se um foco na substancia branca, sem parasitos. As alterações das cellulas de PURKINJE, tanto quanto se possa julgar pelo methodo, parecem consideraveis.

Cão n. 27.

Córte I – medulla espinhal [methodo de NISSL pelo azul de toluidina.]—Contamos mais de 10 focos na substancia branca e 3 a 4 na substancia cinzenta. As cellulas apresentam aspecto normal no que diz respeito aos granulos chromophilos; uma grande cellula do corno anterior, situada em pleno foco de myelite, conserva integras as granulações de NISSL. Os focos são formados por macrophagos e algumas celíulas plasmaticas; não ha «*gitterzellen*». Por este methodo não encontramos parasitos, o que, como tivemos occasião de verificar, é atribuivel a uma descoloração total do *Schizotrypanum* occorrendo na phase de differenciação do methodo de NISSL. Córtes de raizes rachideanas junto da medulla, mostram focos inflammatorios constituidos por macrophagos em cujo plasma é encontrado o *Schizotrypanum*; os vasos do tecido conjunctivo intra-fascicular mostram infiltração perivascular.

Córte II—cerebro [cortex—methodo de NISSL]—A zona apanhada no córte não é a das grandes pyramydaes; as alterações cellulares não são notaveis. Os parasitos não são demonstrados.

Córte III—cerebro [cortex—H. E.]—14 focos na substancia branca, situados na proximidade de vasos, alguns dos quaes com infiltração perivascular e da bainha lymphatica.

Os focos em geral, são de pequenas dimensões; existe, porém, um extenso, com desintegração da substancia nervosa; as cellulas que predominam são cellulas granulo-adiposas e macrophagos, juntamente com cellulas plasmaticas. O *Schizotrypanum cruzi* é encontrado em abundancia nos focos, ás vezes no plasma de cellulas granulo-adiposas.

Leptomeningite hemorrhagica mais ou menos diffusa; o exsudato é mononuclear.

Córte IV—cerebro [H. E.]—Não encerra focos. Leptomeningite hemorrhagica com exsudacto mononuclear.

Cão nº. 44.

Sacrificado no 47º dia de inoculação.

Córte I—medulla espinhal [H. E.] — De um lado, abundancia dos focos em ambas as substancias. Do outro lado os focos são em numero de 3, 2 situados na substancia cinzenta e outro no limite das duas substancias. As leptomeninges são distendidas por um exsudato mononuclear diffuso.

Os focos são constituidos por cellulas ramificadas [fibroblastos ? nevroglia fibrosa?] encerrando grossos elementos exsudados [cellulas plasmaticas, lymphocytos e macrophagos]; não são presentes cellulas granulo-adiposas. Um dos septos conjunctivos que parte das leptomeninges e conduz os vasos, mostra em determinado ponto espessamento fibroso: as cellulas ramificadas ahi existentes mostram morphologia semelhante á das encontradas nos focos. Não encontramos parasitos nos focos.

Córte II—cerebro [cortex, H. E.]—Vemos 2 focos pouco extensos, occupando a snbstancia branca, um delles com a mesma estructura que assignalamos para os da medulla. Ao nivel do outro, os vasos apresentam alterações progressivas [nova formação vascular], as cellulas são ramificadas [fibroblastos? nevroglia fibrosa?]; na bainha dos vasos, infiltração com abundancia de cellulas plasmaticas.

Não encontramos parasitos nos focos.

Cão nº. 158.

Sacrificado no 49º dia de doença.

Estudo histopathologico—As leptomeninges apresentam uma infiltração diffusa por cellulas plasmaticas, as

quaes se localisam em torno e na visinhança immediata dos vasos.

Estas alterações occorrem independentemente de lesões na substancia nervosa. Assim ellas são bem evidentes em preparados de cerebro, o qual, neste animal, mostra focos muito escassos e em córtes de cerebello, onde não ha focos inflammatorios. As arteriolas e precapillares na espessura da substancia nervosa, afastados dos focos, não mostram infiltração perivascuiar.

As lesões em foco são encontradas com facilidade na medulta espinhal, ahi existindo exclusivamente na substancia branca. Em diversos córtes pudemos localizal-as na substancia branca dos cordões antero-lateraes, mais ou menos no feixe pyramidal cruzado, em outros córtes occupavam o feixe cerebelloso directo, em outros o feixe pyramidal directo.

Em todos os focos é possivel distinguir um vaso, quasi sempre uma arteriola, outras, um precapillar. O vaso mostra proliferação das cellulas endotheliaes, as quaes obliteram parcialmente a luz do vaso [v. Fig.]; em outros focos parece ter havido obliteração completa da luz do vaso.

Alguns polymorphonucleares são vistos na visinhança immediata do vaso, mas não são nunca abundantes.

As cellulas mais numerosas na porção central do foco são macrophagos, alguns encerrando o parasito; entre os macrophagos, e em torno da infiltração mononuclear perivascular são abundantes as cellulas granulo-adiposas as quaes constituem o elemento que occupa a maior extensão do foco, conforme podemos ver em preparados corados pelo SCHARLACH-ROT. O methodo de CAJAL pelo ouro-sublimado mostra a existencia de astrocytos fibrosos não abundantes na zona que circunda o foco de myelite (v. Fig.].

No cerebro os focos encontrados são raros.

Na medulla espinhal taes focos mostram dimensões variaveis; a extensão do foco está na dependencia provavel de sua data, concordando com uma disseminação maior ou menor dos corpos granulosos.

Methodo de Unna-Pappenheim pelo methyl-grün-pyonin [córtes de cerebro e medulla/.

Infiltração por vezes consideravel dos vasos das leptomeninges por cellulas plasmaticas, a qual é verificada mesmo em córtes onde não ha focos inflammatorios na espessura da substancia nervosa.

Methodo de Nissl [córtes de medulla e cerebro]—Na medulla, raras cellulas nervosas mostram lesões que correspondem em regra geral, ás primeiras phases das alterações [alterações toxicas/ de NISSL. Na cortex cerebral, ao contrario, as cellulas mostram com frequencia alterações, sendo que com fraco augmento (Oc. 2, obj. AA] é possivel contar 8 ou mais elementos em cada campo microscopico.

Cão n. 178.

Córte I—medulla espinhal [H. E./—De um lado, 11 focos na substancia branca; de outro lado, 4 focos na substancia branca e um extenso em continuação com o corno posterior. São focos pequenos, formados principalmente por macrophagos, em cujo interior, com frequencia, encontra-se o *Schizotrypanum cruzi* [corpusculo leishmaniforme]; o parasito é presente em todos os focos. Infiltração perivascular e do espaço lymphatico dos vasos proximos dos focos. Na substancia cinzenta, hemorrhagias punctiformes discretas. Leptomuninges normaes.

Córte II—cerebro [cortex—H. E.]—Focos muito numerosos, localisados á substancia cinzenta. São focos poucos extensos, encerrando numerosos parasitos e formados de modo predominante, por macrophagos. Não ha hemorrhagias na substancia nervosa. Leptomeningite hemorrhagica, com exudacto mononuclear [não são rara as cellulas plasmaticas]; não ha parasitos no exsudato meningeano.

Córte III—cerebello [H. van GIESON]—Um pequeno foco na zona plexiforme, sem parasitos. Na camada dos grãos, em diversos pontos, notam-se hemorrhagias punctiformes. Infiltração moderada e irregular das leptomeninges.

Córte IV—cerebello [methodo de NISSL pelo azul de toluidina]—São vistas as seguintes lesões: cellula de *Purkinje a:*—conformação geral da cellula conservada, parecendo haver leve augmento de volume: diminuição dos granulos de NISSL, principalmente em torno do nucleo [chromatolyse perinuclear]; nucleolo excentrico e grande nucleo claro, espherico, vesiculoso; *cellula de Purkinje b:*—reduzida de volume, mais ou menosarredondada ou fusiforme; nucleo reduzido e deformado, com uma coloração azul diffusa do succo nuclear e do plasma; membrana nuclear pouco apparente, nncleolo algum tanto tumefacto; granulos de NISSL diminuidos de volume e de numero, principalmente em torno do nucleo que guarda uma posição central; *cellula de Purkinje c:*—diminuida de volume, deformada, o nucleo central mostrando 2 depressões onde vem se alojar granulos de substancia chromophila em dissolução; chromatolyse perinuclear. Essas alterações cellulares são encontradas facilmente, havendo, porém, variações notaveis conforme o ponto; em alguuns folhetos do cerebello, as alterações são verificadas em cellulas consecutivas; em outros folhetos, todas as cellulas são normaes.

Córte V—cerebro (cortex—methodo de NISSL pelo azul de toluidina)—São vistas as seguintes lesões: *grande cellula pyramidal a:*—levemente tumefacta, o nucleo vesiculoso mostrando uma membrana mais clara que a normal; posição central do nucleo e chromatolyse perinuclear evidente: *grande cellula pyramidal b:*—mostrando em um dos polos um agglomerado de 6 cellulas da nevroglia (neuronophagia) e chromatolyse; *cellula pyramidal c:*—retrahida e enrugada, com o nucleo central, deformado, de limites indistinctos e coloração diffusa; o plasma mostra uma coloração geral azul intensa e em determinada zona marginal. um aspecto reticulado e aureolado; a substancia chromophila acha-se reunida em grandes blocos na base da pyramide.

Quasi todas as grandes pyramidaes mostram chromatolyse a qual é frequentemente associada á neuronophagia.

Nas demais cellulas da cortex, as alterações não chamam a attenção, se accaso existem.

Córte VI—medulla espinhal (methodo de NISSL)—As cellulas multipolares mostram um aspecto normal da substancia chromophila, mesmo quando, ás vezes, ficam situadas na proximidade dos focos. Outras porém, raras, mostram chomatolyse perinuclear,

Cão nº. 118.

Morto no 119º dia de infecção.

Medulla espinhal (preparado pelo methodo de LHERMITE]. As cellulas que predominam em alguns focos são cellulas da nevroglia fibrillar, nesses focos sendo igualmente coradas fibrillas isoladas da nevroglia; nas suas malhas são encontrados outros elementos cellulares.

RELAÇOES ENTRE LESOES ANATOMO-PATHOLOGICAS E O *SCHIZOTRYPANUM CRUZI.*

Nos focos de encephalo-myelite, e, de um modo geral, no systhema nervoso o *Schizotrypanum cruzi* é encontrado com mais frequencia no plasma de macrophagos, uns provavelmente correspondendo a leucocytos endotheliaes, outros, que nos parecem ser os mais numerosos, correspondendo a derivados da microglia — *macrophagos microglicos*.. E' encontrado tambem no plasma de cellulas granulo-adiposas, e mais raramente no interior de cellulas da nevroglia protoplasmatica. Nunca foi verificado no interior da propria cellula nervosa.

A sua presença nos focos de encephalo-myelite é, em certos cães, tão abundante, que talvez, se possa affirmar que todos os macrophagos do exsudato o encerram.

Em outros animaes, menos numerosos, sem que possamos atinar com a razão, os fócos mostram identica constituição cellular, o prazo de infecção é o mesmo, a «amostra» de *Schizotrypanum* tem a mesma proveniencia, e no entanto, os parasitos são raros e mesmo de difficil constatação.

A pesquiza do schizotrypano em córtes histologicos póde ser feita com vantagem pelo methodo commum de hematoxylina-eosina. Optimos resultados obtem-se no material fixado pelo sublimado—alcool de SCHAUDIN e corado pelo methodo de GIEMSA a humido ou pela hematoxylina ferrea de HEIDENHAIN.

O methodo de NISSL é absolutamente improprio, pois commummente a differenciação, que é optima para as granulações chromophilas, acarreta um descoramento completo dos parasitos cuja verificação é assim impossibilitada; uma pesquiza systematica e um resultado negativo nunca devem ser tentados ou firmados em preparados por este methodo; sem embargo, occasionalmente é obtida uma coloração satisfactoria do parasito (v. Fig. 31, Est. 51).

PATHOGENIA DO PROCESSO.

O estudo comparativo do material nos leva a interpretar como se segue a pathogenia da encephalo-myelite provocado pelo *Schizotrypanum cruzi.*

A figura 33, Est. 51 parece representar a phase inicial de invasão do systema nervoso pelo *Schizotrypanum cruzi.*

Tudo nos leva a acreditar que seja com a morphologia de corpusculo leishmaniforme e por assim dizer passivamente, como parasito intracellular, que o schizotrypano é acarretado para a espessura da substancia nervosa; tem grande importancia nessa disseminação do germen ou nessa infecção dos centros nervosos, as cellulas da bainha adventicia dos capillares e precapillares, ou talvez cellulas nevroglicas especiaes (nevroglia perivascular de HELD); provavelmente o *Schizotrypanum* atravessando activamente as paredes dos capillares intra-encephalicos já facilmente permeaveis por condições peculiares de sua estructura, é immediatamente englobado por uma cellula da adventicia, nevroglia ou conjunctiva, a qual em seguida afasta-se do vaso, emigrando para

a espessura da substancia nervosa (v. Figs. 33, 34 e 35, Est. 51).

Estas cellulas com o parasito em seu cytoplasma constituem centro de attracção para outros elementos que, uns emigram dos vasos visinhos, o que explica as relações de visinhança entre focos e vasos com infiltração, outros geram-se na propria substancia nervosa (cellulas da nevroglia ameboide e microglia evoluindo para cellula granulo-adiposa) e dessa maneira se constituem focos em plena substancia nervosa; a desintegração da substancia nervosa, a formação de cellulas granulo-adiposas derivadas daquellas duas ordens de elementos, a sua dispersão posterior, e a fibrose cicatricial, são phases successivas de um processo geral bem estabelecido em pathologia e que dispensa interpretação.

Vem muito opportunamente aqui a lembrança de uma engenhosa supposição de PENFIELD (1), que explicaria facilmente como o parasito que entra em activa multiplicação no plasma dos macrophagos do foco e ahi adquire apparelho flagellar, volta novamente á circulação.

CONCLUSÕES.

1—Em 39 cães adultos inoculados com o *Schizotrypanum cruzi*, amostra isolada do tatú, (*Tatus novemcinctus* L.) e exaltada por passagens em serie, observamos um processo de meningo-encephalo-myelyte que se traduzia clinicamente por astasia, paralysias, convulsões e outras desordens nervosas.

2—O processo offerece grande regularidade em seu tempo de evolução, symptomas clinicos e lesões histo—pathologicas.

3—Apresentando o «staup» ou «canine distemper» egualmente uma forma paralytica, foi nosso cuidado verificar se nos animaes que observamos não haveria associação entre «staup» e schizotrypanose. No campo de experiencias (v. Fig. 9), onde os cães eram alojados em casinholas individuaes, nunca observamos a paralysia em animaes não inoculados com schizotrypano, mantidos nas mesmas condições de alimentação, alojamento e exposição a diversas epizootias que os inoculados. A pesquiza do virus do «staup» nos cães paralyticos resultou negativa, quer fosse feita a inoculação em animaes sensiveis (cão de dias de edade e coelho) do material do systema nervoso, de sangue filtrado em vela BERKEFELD, quer a pincelagem do nariz e bocca dos mesmos com mucco nasal de cão paralytico. Finalmente não observamos nos animaes paralyticos o quadro histo-pathologico do «staup».

4—A encephalo-myelite nos cães paralyticos inoculados com schizotrypano é constituida por focos de pequenas dimensões, apresentando relações constantes de visinhança com os capillares e precapillares intra-encephalicos e distribuidos indifferentemente pela substancia branca e cinzenta do cerebro (cortex, corno de AMMON) e da medulla em (todos os segmentos), sem systematisação nem preferencia apparente.
No cerebello, os focos são mais raramente encontrados, mas ahi tambem, não mostram preferencia por nenhuma das camadas.

(1) «Microglia cells seem to transport the ingested substances to the outer surface of blood vessels where they lose their granular and vacuolar appearance, decrease in size, and finally leave the vicinity of the vessel in characteristic form for renewed phagocytosis. The inference is made that the digested contents of these cells pass into the vessel lumen or into the perivascular space».

Os focos são formados por macrophagos, alguns evidentemente emigrados dos vasos, outros, mais numerosos, provavelmente derivados da microglia regional *(macrophagos microglicos)*; a desintegração da substancia nervosa, a formação de abundantes cellulas granulo-adiposas, a sua dispersão posterior e fibrose cicatricial consecutiva, são estadios successivos de evolução dos focos.

O *Schizotrypanum cruzi* com a morphologia de corpusculo leishmaniforme é frequentemente encontrado no cytoplasma de cellulas ao nivel dos focos.

5º—Os vasos da substancia nervosa apresentam infiltração da adventicia e da bainha lymphatica por macrophagos, lymphocytos e cellulas plasmaticas; esta infiltração é discontinua e guarda relações de visinhança com os focos de encephalo-myelite; não apresenta a uniformidade de distribuição que é vista em outras affecções (paralysia geral, doença do somno, encephalite epidemica). Em alguns pontos, a infiltração, mais extensa, é nitidamente perivascular.

Em arteriolas e precapillares, quasi sempre no interior ou nas margens de um foco de encephalomyelite, observa-se proliferação das cellulas endotheliaes e obliteração parcial ou total da luz do vaso.

6º—A cellula plasmatica é elemento constante no exsudacto inflammatorio da meningo-encephalomyelite causada pelo *Schizotrypanum cruzi;* nunca, porém, constitue elemento dominante tal como refere SPIELMEYER na molestia do somno.

7º—As lesões da cellula nervosa existem, mas não são proeminentes. As cellulas mais lesadas são as cellulas de PURKINJE do cerebello e as lesões constam de tumefacção e chromatolyse perinuclear, e necrose.

Outras cellulas regularmente lesadas são as grandes pyramidaes da cortex que, além das lesões acima mencionadas, apresentam com frequencia figuras de neuronophagia.

As cellulas multipolares da medulla são mais raramente lesadas; em alguns casos pudemos observar taes elementos localisados na visinhança immediata ou mesmo no proprio foco de myelite, perfeitamente normaes no que diz respeito aos granulos chromatophilos.

8º—A dura-mater é normal. As leptomeninges apresentam uma inflammação discontinua. O exsudato inflammatorio, pouco abundante, é de natureza mononuclear, constituido por macrophagos, que predominam, por lymphocytos e cellulas plasmaticas. Muitas vezes a leptomeningite tem um caracter hemorrhagico, principalmente ao nivel do cerebello. Os vasos das leptomeninges apresentam em grande extensão uma infiltração por macrophagos e cellulas plasmaticas.

9º—O *Schizotrypanum cruzi* com a morphologia de *trypanosoma* que apresenta no sangue, uma vez atravessada a tunica interna do vaso, é phagocytado ou penetra activamente em cellulas que circundam o vaso (microglia perivascular ? cellulas da adventicia ?); são esses elementos que, com a morphologia de macrophagos, disseminam o germen pelos centros nervosos; podemos assim dizer que, ordinariamente,

o germen penetra de um modo passivo, no parenchyma nervoso.

10º—Os methodos especiaes que empregamos nos autorizam a affirmar que as cellulas que commumente encerram o *Schizotrypanum* no systema nervoso central são maccrophagos: estas cellulas não se coram pelos methodos especificos IV de ALZHEIMER e ouro sublimado de CAJAL.

Os caracteres morphologicos bem como os methodos histologicos actualmente conhecidos não são capazes de precisar a verdadeira origem desses macrophagos, sendo facto estabelecido em pathologia que podem ter uma origem multipla. A evolução dessas cellulas para cellulas granulo-adiposas, que é um phenomeno constante na paralysia experimental que estudamos, indica que esses macrophagos são em grande parte derivados da «microglia»; são assim, geralmente, *macrophagos microglicos;* as lesões vasculares indicam, porém, que tambem os leucocytos endotheliaes concorrem para a formação dos macrophagos.

Afóra os macrophagos e cellulas granulo-adiposas, o methodo IV de ALZHEIMER nos revela que o parasito tambem se aloja em cellulas da nevroglia protoplasmatica (v. Fig. 27, Est. 50).

11º—O regresso do schizotrypano ao sangue circulante após multiplicação com a morphologia de *leishmania* na espessura do parenchyma nervoso, pode realizar-se, em parte, por intermedio das cellulas microglicas, em cujo cytoplasma encontram condições favoraveis á sua vitalidade.

EXPLICAÇÃO DAS ESTAMPAS 38—51.

As figuras de 1 a 17 das estampas 38 a 47 são photographias

Fig. 1) Inoc. 62—Astasia e disbasia. Titubeação cerebellar com tendencia a manejo e queda para a esquerda. Paresia dos 4 membros.

Fig. 2) Cão Inoc. 29—Inicio de um accesso convulsivo (convulsão tonica).

Fig. 3) Cão Inoc. 26—Paralysia dos 4 membros. Inicio de accesso convulsivo (phase tonica).

Fig. 4) Cão Inoc. 44—Paresia dos membros posteriores, principalmente do esquerdo, que arrasta durante a marcha—Titubeação.

Fig. 5) Cão Inoc. 158—Paresia dos membros anteriores.

Fig. 6) Cão Inoc. 158—Keratite e ulceração.

Fig. 7) Cão Inoc. 25—Astasia e paralysia dos 4 membros.

Fig. 8) Cão Inoc. 27—Paralysia completa dos 4 membros. Ulceração da região glutea.

Fig. 9) Canil onde foram feitas as experiencias.

Fig. 10) Cão Inoc. 178—Córte de medulla mostrando a multiplicidade de focos inflammatorios (podendo-se contar 9 fócos diversos).

Fig. 11) Cão nº 23—Córte de medulla (corno anterior limite da substancia branca). Focos confluentes dando a impressão de infiltração diffusa. Infiltração perivascular e da bainha lymphatica dos vasos regionaes.

Fig. 12) Cão Inoc. 23—Ponto do córte precedente visto com forte augmento—Os focos são formados principalmente por cellulas granulo-adiposas e macrophagos.

Fig. 13) Cão Inoc. 178—Córte de medulla.—Vêm-se 3 focos inflammatorios e infiltração perivascular e da bainha lymphatica dos vasos regionaes. Algumas cellulas com apparencia normal.

Fig. 14) Cão Inoc. 158—Corte de medulla espinhal.—Proliferação do endothelio e obliteração da luz de um vaso proximo de um foco de myelite.

Fig. 15 e 16) Cão Inoc. 24—Corte do cerebro.—Coloração da nevroglia pelo methodo CAJAL (ouro—sublimado)—Proliferação da nevroglia em torno de focos de encephalite.

Fig. 17)—Cão Inoc..... Córte de medulla.—Methodo de NISSL com azul de UNNA.—Abundancia de cellulas plasmaticas no exsudacto perivascular e em um foco de myelite (cf.)

Fig. 18) Cão Inoc. 158—Córte de medulla. Methodo Scharlochvoll-hematox. Oc. 5, obj. AA—ao nivel da mesa.
Confluencia de diversos focos mostrando infiltração da bainha lymphatica e perivascu-
As cellulas granulo-adiposas lar.
As cellulas granulo-adiposas marcam a porção peripherica de cada um dos focos confluentes («diffusão» das cellulas granulo-adiposas).

Fig. 19) Cão Inoc. 158—Oc. 4—Obj. Im. 1/12—Cellulas granulo-adiposas vistas com forte augmento. (mesmo corte precedente) e mésmo methodo.

Fig. 20) Cão Inoc. 178—Oc. 1—Obj. im x/12—Nivel da mesa—Córte de medulla. Methodo

Fig. 1

Fig. 2

Fig. 3

Fig. 4

FIG. 1

FIG. 2

Fig 7

Fig. 8

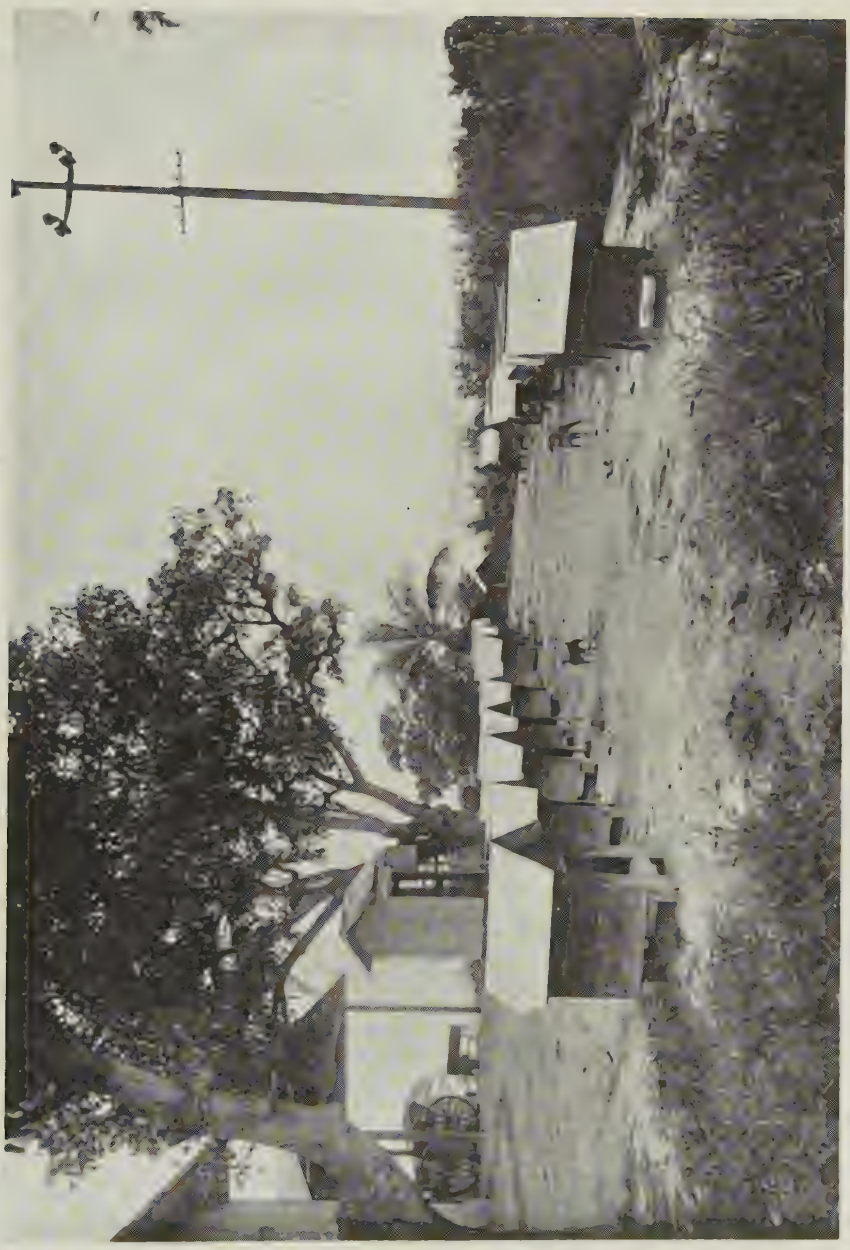


Fig. 10

Fig. 11

Fig. 12

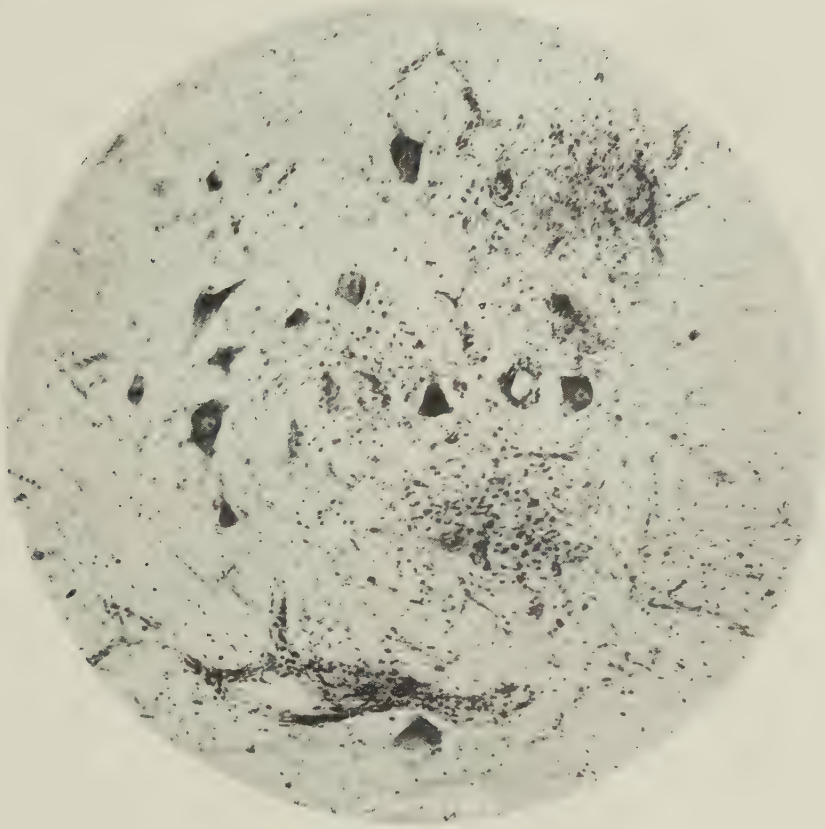


Fig. 13

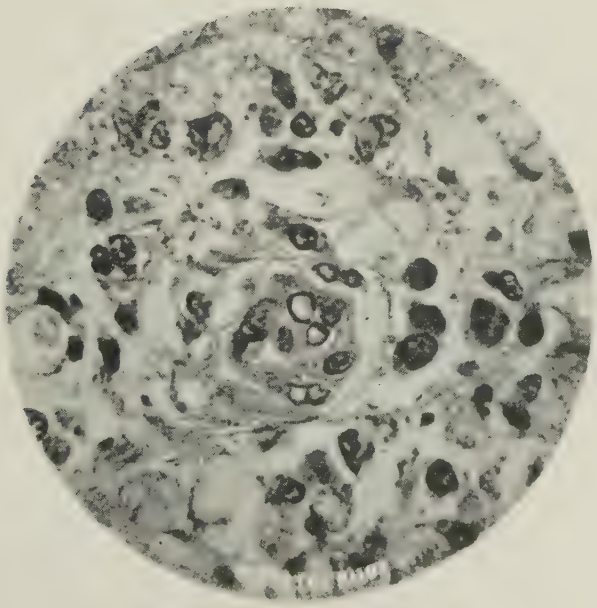


Fig. 14

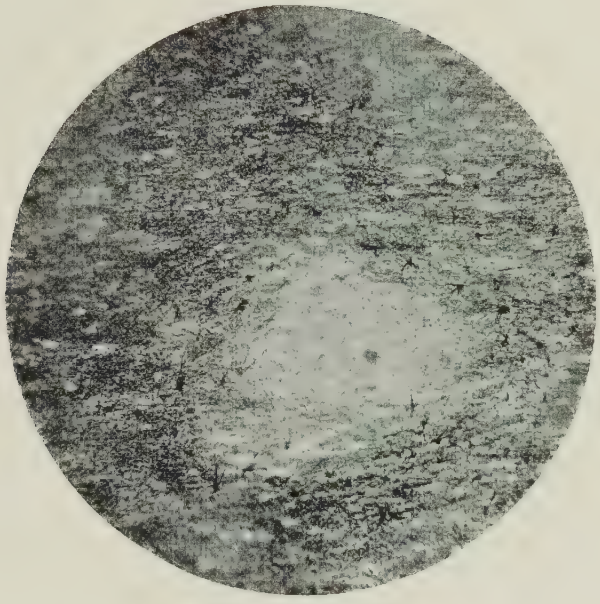


Fig. 15

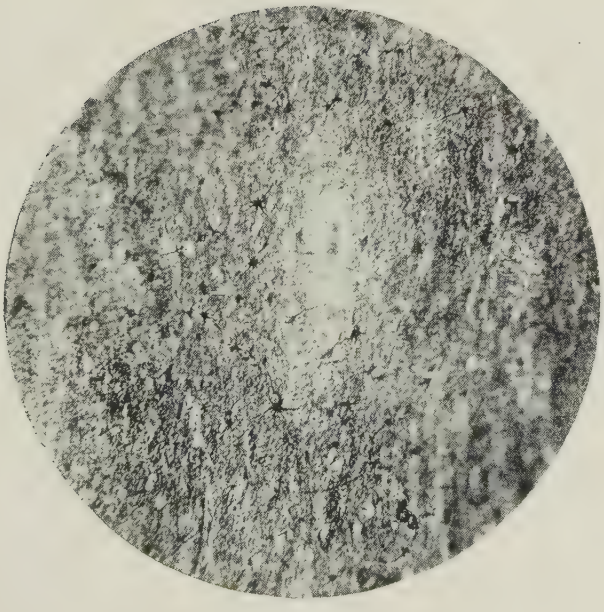


Fig. 16

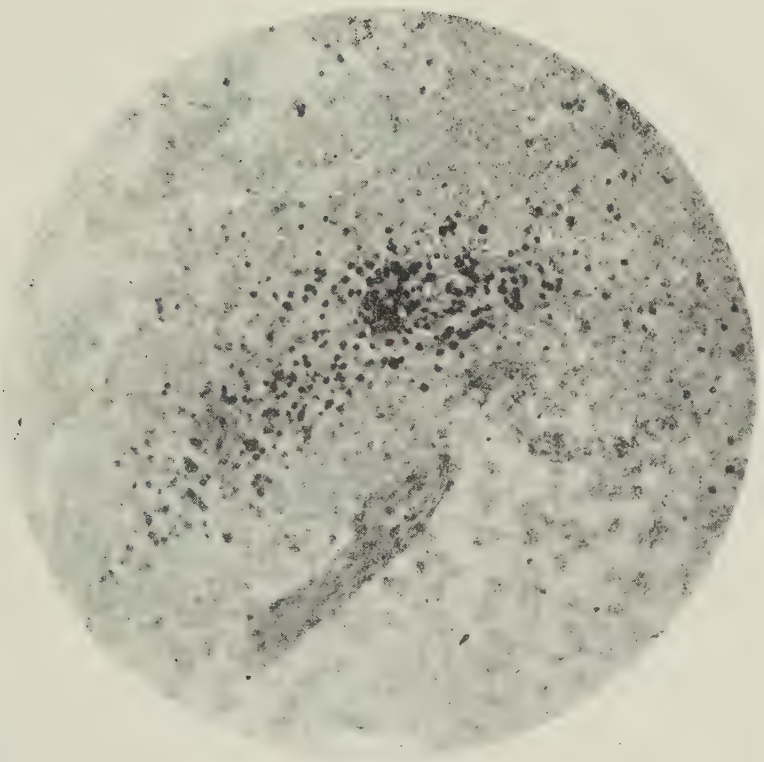
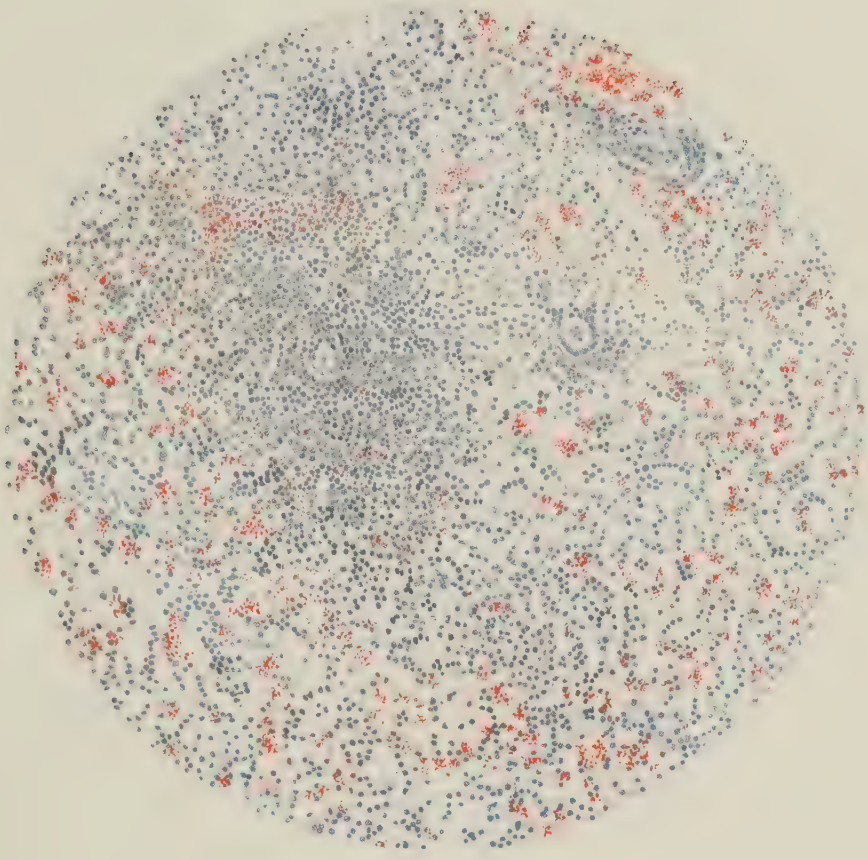


Fig. 17

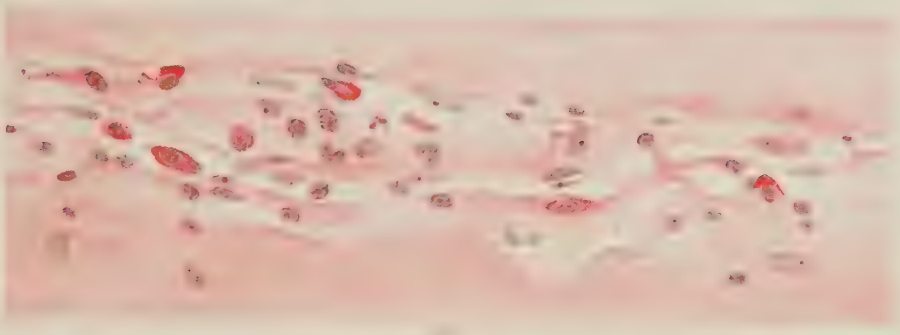


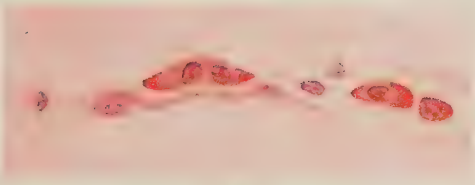
18

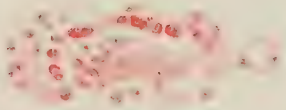
19

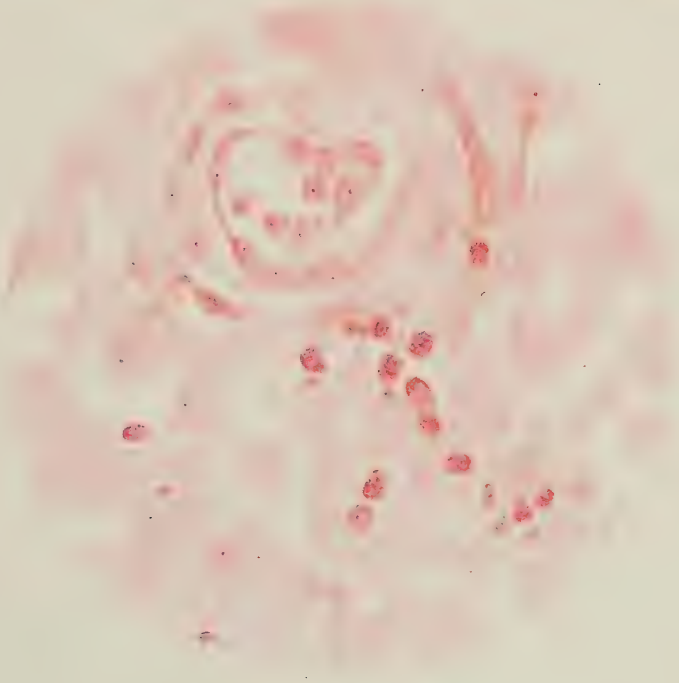
COMP.-LITH.-YPIRANGA-S.PAULO

L. KATTENBACH DEL.



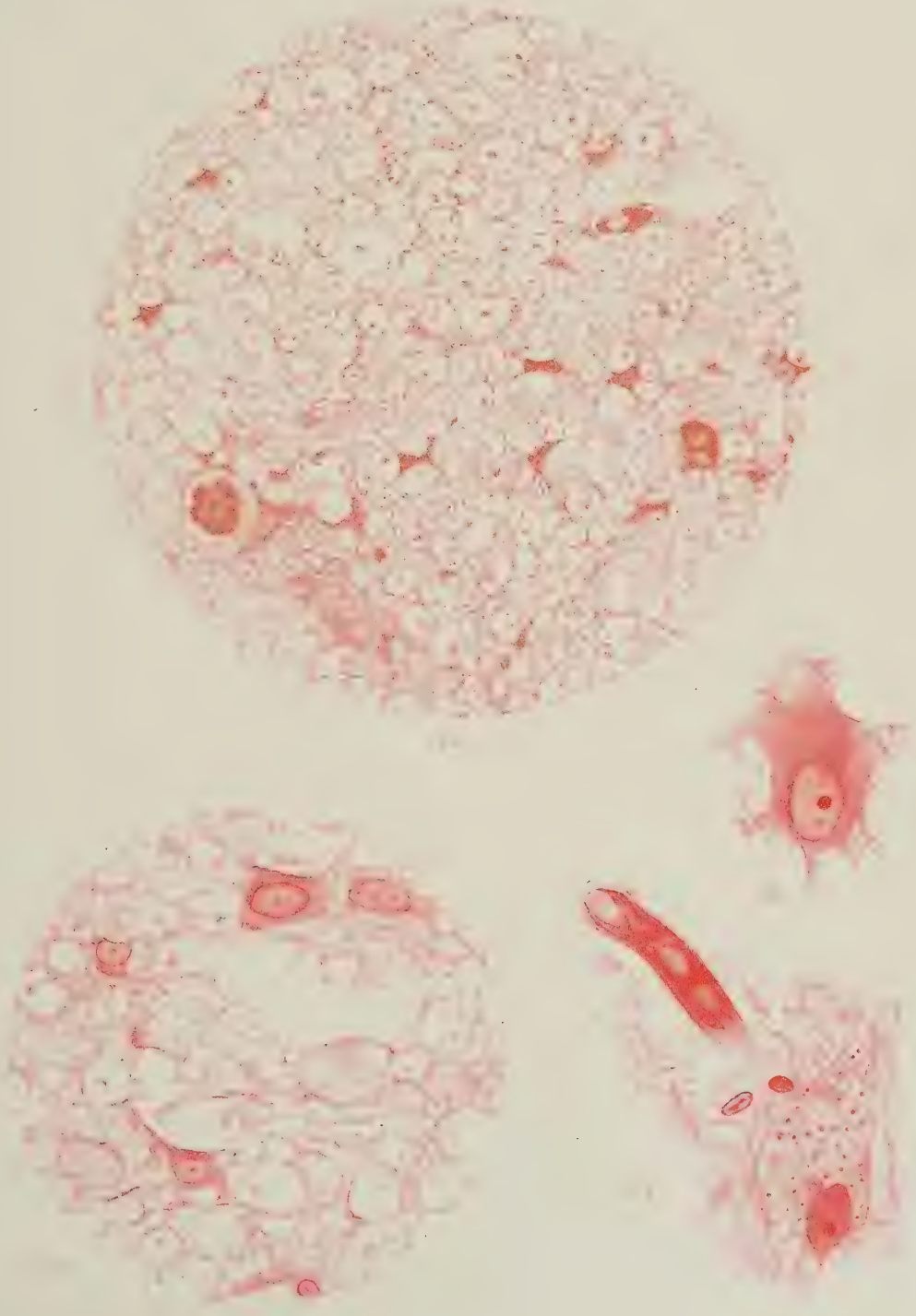




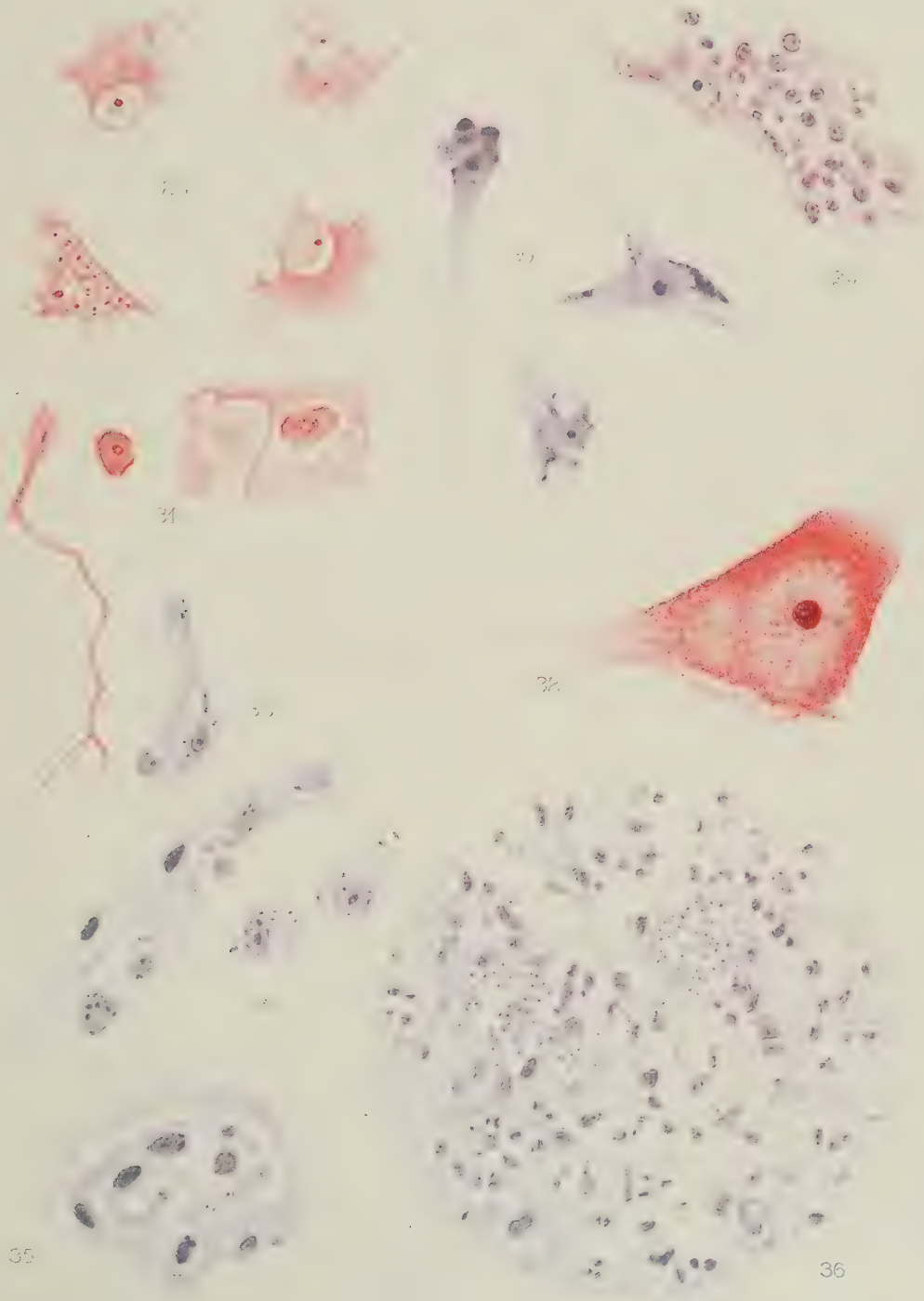


COMP. LITH. OSWALDO CRUZ & PAULO PIO

L. KATTENBACH DEL.



L. KATTENBACH DEL.



L. KATTENBACH DEL.

UNNA—PAPPENHEIM — Foco de myelite visto em forte augmento, mostrando predominancia de cellulas granulo-adiposas e presença de cellulas plasmaticas coradas de modo especifico. No campo vê-se uma proliferação do endothelio, e obliteração parcial de sua luz.

Fig. 21) Cão Inoc. 178—Córte de medulla. Methodo de UNNA-PAPPENHEIM—Oc. 1—Obj. S. S.—nivel da mesa.
Pequeno vaso com obliteração de sua luz e infiltração da bainha lymphatica por cellulas plasmaticas.

Fig. 22) Cão Inoc. 158—Córte de cerebro. Leptomeningite circumscripta, mostrando cellulas plasmaticas no exsudato inflammatorio. Oc. O—Obj. im. 1/12—nivel da mesa. Methodo UNNA-PAPPENHEIM.

Fig. 23) Cão Inoc. 158—Oc. 2 Ob. 1/12—nivel da mesa—UNNA-PAPPENHEIM — Infiltração por cellulas plasmaticas ao longo dos septos conjuntivos que partem das leptomeninges e conduzem os vasos. Córte de medulla.

Fig. 24) Cão Inoc. 158—Córte de medulla. Methodo IV de ALZHEIMER para nevroglia protoplasmaticas (m.....
Proliferação de cellulas da nevroglia protoplasmatica no limite de um foco de myelite.

Fig. 25).—Ponto do mesmo foco para dentro, visto com grande augmento Oc. O—Obj. 1/12—nivel da mesa.
Cellulas da nevroglia protoplasmatica com alterações. Entre ellas, cellulas granulo-adiposas.

Fig. 26—Cellula de nevroglia ameboide vista na peripheria de um fóco de myelite—Mesmo fóco da fig. 25—Oc. 2—Obj. 1/12 nivel da mesa.

Fig. 27) Cão Inoc. 149—Córte de medulla. Oc. O—Obj. im 1/12—nivel da mesa. Methodo IV de ALZHEIMER—Cellula de nevroglia protoplasmatica encerrando o *Schizotrypanum cruzi* com uma morphologia de corpusculo leishmaniforme. Junto delle vê-se um capillar.

Fig. 28) Cão Inoc. 23—Oc. O—Obj. mi 1/12 nivel da mesa.
Methodo de UNNA—PAPPENHEIM—Macrophagos encontrados em focos do encephalo-myelite; são o elemento onde com mais frequencia se aloja o *Schizotrypanum cruzi* «macrophagos microglicos ? leucocytos endotheliaes ?).

Fig. 29) Cão Inoc. 149—Córte de cerebello—Oc. O—Obj. 1/12—nivel da platina—Methodo de NISSL pelo azul de UNNA—Cellula de PURKINJE com chromatolyse na proximidade de um fóco.
O foco é constituido principalmente por macrophagos.

Fig. 30) Cão Inoc. 158—Córte de cerebro—Oc. O—Obj. 1/12—nivel da mesa. Methodo de NISSL pelo azul de UNNA—Altearções de NISSL em cellulas da cortex cerebral.

Fig. 31) Cão Inoc. 11—Córte de cerebello—Oc. 1 Obj. DD—nivel da mesa. Methodo da H. E—Alterações das cellulas de PURKINJE.

Fig. 32) Cão Inoc. 23—Oc. O—Obj. 1/12—Methodo de UNNA-PAPPENHEIM—Cellulas multipolares do ramo anterior da

medulla, com chromatolyse e alterações nucleares.

Fig. 33) Cão Inoc. 152—Córte de cerebello—Oc. O. Obj. 1/12—nivel da mesa. Methodo de NISSL pelo azul de UNNA. Cellula adventicia de um capillar encerrando o *Schizotrypanum cruzi* com a morphologia de corpusculo leishmaniforme.

Fig. 34) Cão Inoc. 152—Córte de cerebello.—Oc. comp. 6. Obj. 1/12 nivel da mesa.—Methodo de NISSL pelo azul de UNNA. Cellulas derivadas da adventicia de um capillar, encerrando o *Schizotrypanum cruzi*—Estas cellulas revestem a morphologia que não pode ser distincta da de um macrophago. A figura illustra o modo provavel de dissemináção do parasito nos centros nervosos.

Fig. 35) Cão Inoc. 23—Córte de cerebro—Oc. 2. Obj. 1/12, nivel de mesa.—Methodo da Hematoxylin-eosina — Parasitos em cellulas da parede de um capillar.

Fig. 36) Cão Inoc. 23—Córte de cerebro—(corno de Ammon) Oc. O. Obj. 1/12 cm, do nivel da platina—Methodo de Hematoxilina-eosina zona de um grande fóco de encephalite, mostrando numerosas cellulas com o *Schizotrypanum cruzi*,

Litteratura

CHAGAS, C. — 1909—Nova trypanosomiase humana. Estudos sobre a morphologia e o ciclo evolutivo do *Schizotrypanum Cruzi*. n. gen. n. sp., ajente etiologico de nova entidade morbida do homem. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1909. T. I, fasc. 2, p. 159.

CROWELL, B. C. — 1923 The Acute Form of American Trypanosomiasis: Notes On Its Pathology with Autopsy Report and Observations on Trypanosomiasis Cruzi in Animals. Amer. Jour. Trop. Med. 1923, III, 425—454.

MAGARINOS TORRES C, e VILLAÇA, J. — 1918—Encefalite e mielite causadas por um tripanosomo *(T. Cruzi)*. (Nota previa). Brazil Medico 1918, Ann. 32, n. 51, p. 401.

MAGARINOS TORRES, C. e VILLAÇA, J. — 1919—Encefalite e mielite causadas por um tripanosomo *(T. Cruzi)*. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 1919 IX, fasc. 1, p. 80—89.

METZ., A. u. SPATZ., H. — 1924—Die Hortegaschen Zellen (=das sog. "dritte Element") u. ü. ihre funktionelle Bedeutung. Zeitschr. f. d. ges. Neur. u. Psych., 1924, v. XXXIX, s. 138—170.

SPIELMEYER, W. — 1908—Die Trypanosomenkrankheiten und ihre Beziehungen zu den syphilogenen Nervenkrankheiten. 1908. Fischer. Jena.

PENFIELD, W. — 1925—Microglia and the Process of phagocytosis in Glioma. Amer. Jour. of. Path., 1925, v. I, p. 77.

RIO HORTEGA, P. del. — 1920—La microglia y su transformacion en cellulas en bastoncito y cuerpos granulo-adiposos. Trab. Lab. Inv. Biol. Madrid, 1920, XVIII, p. 37—83.

SOUZA CAMPOS, C. — 1924—Sur la paraplégie des animaux infectés expérimentalement par le *Trypanosoma cruzi* (CHAGAS, 1909). C. R. Soc. Biol. 1924, T. 91, n. 30, p. 984.

SOUZA CAMPOS, C. — 1925—Sur la paralysie des animaux (chiens., souris) infectés expérimentalement avec des cultures de *Trypanosoma cruzi*. C. R. Soc. Biol. 1925 T. 93, n. 20, p. 40.

VILLELA, E. — 1923—A transmissão intra-uterina da molestia de CHAGAS. Encephalite congenita pelo *Trypanosoma cruzi*. Folha Medica. 1923, Anno 4, p. 41.

VILLELA, E. — 1924—Paralysie experimentale chez de chien pur le *Trypanosoma cruzi*. C. R. Soc. Biol. 1924, T. 91, n. 30, p. 979.

VILLELA, E. — 1925—Variação do poder pathogenico do *Trypanosoma cruzi* (raça neurotropica). Sciencia Medica. 1925, Anno 3, n. 2, p. 147.

VILLELA, E. e MAGARINOS TORRES, C. 1925 – Lésions histopathologiques dans la paralysie expérimentale à *Schizotrypanum cruzi* chez le chien. Nature des cellules contenant le parasite dans le systéme nerveux central. C. R. Soc. Biol., 1925, T. 93, n. 21, p. 133.

VIANNA, G. 1911—Contribuição para o estudo da anatomia patolojica da "Molestia de CARLOS CHAGAS" (esquizotripanoze humana ou tireoidite parazitaria). Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1911, T. III fasc. 2, p. 275—294.

Histopathology of the Central Nervous System in Experimental Paralysis caused by SCHIZOTRYPANUM CRUZI

BY

Eurico Villela and C. Magarinos Torres

of the Instituto Oswaldo Cruz

(With Plates 38—51).

INTRODUCTION

A study of the histopathology of the central nervous system in schizotrypanonis has already several times been attempted.

CHAGAS mentions the production of paralysis in cats.

In the acute form of CHAGAS' disease, GASPAR VIANNA showed up foci of inflammation all over the nervous tissue of the brain, cerebellum, basal nuclei, pons, medulla and spinal cord in its various segments. The trypanosome-harbouring cells he took to belong to the neuroglia; he was also the first to consider the process as one of meningo-encephalo-myelitis.

In puppies inoculated with schizotrypanum, but having shown no paralyses, MAGARINOS TORRES and VILLAÇA founds a mild encephalo-myelitis of an acute nature and with proliferation of the neuroglia cells of the «*Körnchenzellen*» type. The foci were made up of hypertrophic, neuroglia cells, «*Abraumzellen*» of neuroglia origin, neuroglia cells with regressive processes. Plasma-cells were also to be seen in varying numbers.

CROWELL saw at an autopsy of an acute case of CHAGAS' disease a slight thickening of the leptomeninges over the hemispheres and base of the brain with a discrete infiltration by mononuclears and lymphocytes. This process was nowhere intense but fairly uniform and unmistakeable. In the nervous tissues groups of cells of the neuroglia type were seen together with mononuclears; others with the appearance of

neuroglia cells contained many trypanosomes.

Experimental paralysis caused by *Schizotrypanum* infection may be said not to have attracted much atttention until EURICO VILLELA read before the Brazilian Society of Biology (C. R. de la Soc. de Biologie, Oct. 31, 1924) a note on paralysis obtained in adult dogs by inoculating a virulent strain of *Schizotrypanum cruzi* obtained from a spontaneously infected armadillo *(Tatus novemcinctus* L.).

This paralysis could, with few exceptions, be systematically reproduced by reinoculation. The present paper is meant to complete that note by giving the results of the histopathological examination of the central nervous system of the paralysed dogs. In studies we undertook about ten years ago, paraplegia was obtained in a bitch which died in clonic and tonic convulsions. Histologic examination of the spinal cord and brain showed inflammatory foci in which *Leishmania*-shaped trypanosomes were to be seen. Later, (1916-1917), while attempting to prove the intra-uterine transmission of the experimental disease, one of the writers (E. VILLELA) obtained paraplegia in a bitch which bore three puppies. Of these, two became paraplegic without any new inoculation, so that infection must in all likelihood been congenital. Trypanosomes were however not found in the blood of any of them. As the material was not kept for examination, the paralysis could not be proved to be due to the congenital infection.

The last set of experiments, from which material for this study was drawn, was also undertaken with a view to observing intrauterine transmission, its conditions and the congenital disease. Our attention however was called to the severity of the disease which leads to abortion and death within a short time. Convulsions, paralyses, titubation, disorders in locomotion etc. showed that the nervous system was considerably affected.

In spite of the studies mentioned many interesting questions awaited a satisfactory solution, among others, the true nature of the cells which contain trypanosomes in the nervous system, the histopathologic details of experimental paralysis, the pathogenic aspect of the process, which had already been undertaken by GASPAR VIANNA and needed to be taken up again.

The present investigation is not meant to be final solution of all these questions and we hope, on the contrary that it may serve as a starting point for further research. We venture to point out the interest attached to the enquiry into the pathologic lesions of the neuroglia seen in the paralysis of dogs, and principally of the lesions of the «third element», as seen by the use of modern neurohistopathological methods as well as the behaviour of the conducting fibres in this process of diffuse encephalo-myelitis.

And again the pathology of the nervous system in CHAGAS' disease, this complex and fascinating question is a field as yet unexplored which might well attract the attention of the neuropathologist.

The strains of *Schizotrypanum cruzi* used in our experiments were obtained from naturally infected armadilloes collected around Lassance (State of Minas Geraes), where they are common and show a large percentage of infection. The virulence of strains from the armadillo is already considerable and can be yet increased by passage inoculation through puppies and guinea-pigs. In most cases the trypanosomes had undergone frequent reinoculation but in one case it was obtained from the second passage through guinea-pigs.

Two to five cubic centimetres of blood, taken either from puppies, gui-

nea-pigs or paralysed dogs were given by subcutaneous injection. The period of incubation was of at least five or six days, but varied. A systematic examination was not always made so as to determine the term of incubation. The accompanying table shows the date on which the blood was examined for trypanosomes with a positive result and not the day the trypanosomes actually appeared in the blood. The fact is that often this examination was only undertaked so as to make sure of infection and was made at the time when infection was most probable to occur. In most cases the trypanosome is to be found by examination of fresh blood; afterwards it disappears. Not unoften it is no longer to be found when paralysis sets in, and, to demonstrate it, it is necessary to inoculate the blood in a sensible animal. Sometimes however it maintains itself constant during the whole evolution of the disease; there is however no necessary correlation between the number of trypanosomes in the peripheric circulation and the severity of the infection. Of course it may be mentioned that the infections with many trypanosomes in the blood are often accompanied by considerable oedema. The virulende of the strain is indicated by the shortness of the term of incubation, considerable number of trypanosomes in the blood, the severity of the infection which in most case quickly leads to death. Many of the animals were killed deliberately but only those which our experience led us to believe would die within 24 hours. A reproduction of the paralyses in whole sets of animals, its practically constant appearance allow one to believe in a special neurotropism of the strain used. Whether the blood was taken from puppies, guinea-pigs or paralysed adult dogs, nervous symptoms were obtained in the same constant manner.

Paralysis is shown principally in adult dogs. In puppies the disease seems to evolve quicker and with a greater severity, so that the symptoms of septicaemia predominate. There is not time anough for the appearance of clinical symptoms of the involvement of the nervous system with definite localisation. And yet the pathological examination of the nervous system, shows an encephalo-myelitis. The same happens sometimes with adult dogs. Inoculation 65 (cf. accompanying table) is, however, an instance of paralysis in a puppy.

Guinea-pigs, which also have intense septicaemia, never show paralysis. Lambs (of one day to one month of age) never get paralysis, although they are infected; as a matter of fact, the number of trypanosomes in the blood of these animals is never considerable.

SOUZA CAMPOS inoculating the intestinal contents of *Triatomas* which had been allowed to suck infected animals and inoculating cultures of the same strain in rabbit blood-agar obtained the same results; he also obtained paralytic rabbits and white mice.

Might this be due to a special neurotropism of the strain or does it merely depend on a greater degree of virulence ?

This is a question which E. VILLELA and EVANDRO CHAGAS are trying to elucidate. One fact already ascertained by them is that dogs inoculated at the same time with strains from human beings did not become paralysed and that in one of them a reinoculation with a strain from the armadillo gave positive results. An exact appreciation of the fact remains as yet unattained.

All the material for study is from dogs. Animals were obtained from the street service of «Limpeza Publica», which gathers them of the thoroughpares. Street dogs, adult mongrels of different sizes and of ill defined

breeds, they remained in the laboratory kennels for at least a fortnight before being inoculated. As we were studying intra-uterine transmission, we at first inoculated bitches for preference; later on male and female dogs were inoculated indifferently.

As adult dogs and as street dogs we took it for granted that they had resistance, natural or acquired, against the most common infectious diseases, namely piroplasmosis and distemper.

At times however canine itch and multiple ulcerations of unknown nature to us were present.

So as to ascertain the possible concomittence of distemper we made a few experiments which are given in the addendum and were all negative as to results. The *Schizotrypanum* found in the lesions, of all cases leaves no doubt as to the aetiology of the meningo-encephalomyelitis.

Post-mortem examination was always made soon after death and in no case more than 12 hours later.

When death was foreseen to occur within a short time so that the autopsy would not be carried out in time, the animal was killed by chloroform and immediately autopsied.

The central nervous system would be removed and fixed in the following reactives:

Alcohol 96°.
ZENKER's fluid.
Formaldehyde 20%.
Formaldehyde-Ammonium Bromid.

For these fluids we chose segments of the motor zones of the brain and the hippocampus, of the cervical and lumbar expansions, of the spinal cord and different zones of the cerebellum. The rest of the material was kept in formaldehyde 10% for further use.

I) Material of alcohol at 96% was included in celloidin and the following stains were applied;

a) UNNA-PAPPENHEIM's methyl-green-pyronin.

b) NISSL's stain, with UNNA's blue and with toluidin-blue.

II) Material from ZENKER's fluid was stained for preference in haematoxylin-VAN GIESON, and eventually by MANN's method and MALLORY's phosphotungstic haematoxylin.

III) the material fixed in 20% formaldehyde was used for silver impregnation by BIELSCHOWSKY's method.

IV) formaldehyde-ammonium bromid material was used for gold-sublimate impregnation (CAJAL's method).

The formaldehyde 10% material was used for the stains I-VI and VI of ALZHEIMER; of LHERMITTE for the fibrillar neuroglia; of WEIGERT—PAL and WRIGHT for the myelin as well as for the routine haematoxylin-eosin stain.

Of the 39 dogs observed, material from eleven was submitted to a careful and detailed microscopic examination. It was taken from dogs which either died naturally or were killed by chloroform, and in which the disease had lasted for different lengths of time. The description of the histopathology of the process and the conclusions which we feel entitled to submit are based on the examination with different methods of the central nervous system of these eleven dogs.

SYMPTOMATOLOGY.

When trypanosomes make their appearance in the peripheric circulation, there are usually no evident symptoms. These only appear about 20 days after inoculation and are: lack of appetite, emaciation and sadness.

At times there is purulent secretion of the conjunctiva and keratitis (cf. Fig. 6, Plate 40). Diarrhoea, with muco-sanguinolent catarrh is not rare. In some cases there is oedema, which may be very intense.

	N. of inoculation	Species Race Sex Age	Material inoculated	Date of inoculation	Virus obtained from	Date on which Shizot. was seen in the blood	N. of days between inoc. and app. in the blood	Date of observation of symptoms	N. of days between inoc. and app. of symptoms	Symptoms and evolution	Death	Date of death	N. of days bewteen inoculation and death	Observations
1	10	street-dog adult ♂	blood of puppy	March 21-922	armadillo					Paralyses.	killed	May 5-922	45	No Shizot. found in blood at autopsy.
2	11	street-dog adult ♀	blood of puppy	March 21-922	armadillo					Paralyses.	killed	April 29-922	39	
3	12	street-dog adult ♀	blood of puppy	March 21-922	armadillo	May 17-922 (ferv)				Progressive weakening which led up to death. Really typical paralysis was not seen.	died	July 20-922	120	Examinations on June 8 and July 10 showed no Shizot. Blood was taken for dogs 25 and 29.
4	15	street-dog adult ♀	blood of puppy	March 27-922						Paralysis of the four limbs.	died	May 1-922	35	Material was not made use of for study.
5	19	street-dog adult ♀	blood of puppy	March 27-92				May 4-922	38	Epiphora. Edema of abdomen. Paresis of the four limbs. Exulcerations on back. Paralysis became mora marked, wherefore the animal was killed.	killed	May 1-922	35	No reference to blood examination. Blood used for inoc. dog 23 which got numerous Shizot. in the blood.
6	23	street-dog adult ♀	blood of dog inoc. 19	May 4-922	armadillo	May 23-922	19	May 6-922 (edemas)	50	Edema of the body, which has become more marked. Edema varies from one day to another.	killed	June 26-922	53	Shizot. always abundant up to June 23 when he was killed.
								June 23-VI-922 (paresia)		Paresis of hind limbs. Later tonic and clonic convulsions brought about by any stimulus. Coma.				
7	25	german sheep-dog adult ♀	blood of dog inoc. 12	May 4-922	armadillo	May 23-922	19	June 12-922	39	Paresis of the limbs, more so of the hind limbs. Clonic and tonic convulsions whith fainting. Emaciation.	died	June 13-922	40	On June 12 Shizotr. were no longer to be found in the blood.
8	27	hound puppy ♀	blood of puppy	May 9-922	armadillo	May 23-922	14	June 12-922	34	Paralysis of hind-limbs. Back arched. Emaciation. Giddiness. Loss of equilibrium. Paralysis and titubeation become more marked. General prostation.	killed	June 14-922	36	
9	29	fox-terrier adult ♂	blood of dog inoc. 12	May 19-922	armadillo			June 922		Emaciation. Lack of appetite. Paresis of the fore-limbs. Paresis became more marked after a time only to improve afterwards with a general improvement of the state of health. Later there appeared deep ulcers penetrating the articulation of the ankle, with a bad condition of the general state of health.	killed	August 16-922	81	Ulcers, which began as litle exulcerations, appeared when paralysis could already be considered cured. Ulcers penetrated tibio-tarsal articulations.
10	31	street-dog adult ♀	blood of a guinea-pig	May 24-922	armadillo (2nd pas. of virus)			December 7-922	150	Paraplegia of the four limbs. Purulent exudate on conjunctive.	died	August 16-922	163	
11	35	street-dog adult ♀	blood of dog inoc. 23	June 9-922	armadillo			July 20-922	40	Paresis of the hind-limbs. Paresis gets worse and there appears diarrhéa. Atrophy of hind-limbs, diminishing the paralysis. Ulceration of the articulation of the ankle.	died	July 8-922	60	Material could not be made use of.
12	40	adult ♀	blood of dog inoc. 23	June 26-922	armadillo			August 4-922	39	Paralysis of the limbs, principally of the hind-limbs, which became more marked. Emaciation, convulsions.	died	August 6-V922	41	Blood of this dog filtered on Berkefeld filter V and inoculated in dog 50 did not produce paralysis. Unfiltered blood inoc. in guinea-pig 52 produced in this animal a Shizotr. infection. Dog 50 inoculated posteriorly whith blood of dog 81 on Oct. 12 became paralytic.
13	41	street-dog adult ♀	blood of dog inoc. 23	June 26-922	armadillo			August 7-922	42	Emaciated. Sadness, paresis of the hind-limbs, which has become more marked. Edema. Appearance of ulcers on legs. General state of health disimproves during some days. Diarrhoea sets in. Paralysis recedes, but the general state desimproves steadily.	kiled	September 22-922	86	Macroscopically: cerebral congestion. Perisplenitis.
14	44	street-dog adult ♂	blood of a guinea-pig	July 27-922	armadillo	August 7-922	17	August 18-922	28	Emaciation; paresis; both have become more marked. Standing is found difficult. Paralysis is of the left hind-limb which is dragged in walking.	killed	September 6-922	47	
15	50	street-dog adult ♀	blood of dog inoc. n. 18	October 12-922				November 16-922	35	Exsudation of conjunctivæ. Keratitis on left side. Paresis of hind-limbs.		December 25-922	72	This dog had been inoc. previously on Aug. 5-922 whith blood sent through a Berkfeld filter and obtained from dog 40. No symptoms were shown nor were Shizotr. found in the blood up to the time of the present reinoculation with blood.
16	53	street-dog adult ♀	blood of dog inoc. 41	August 16-922	armadillo	September 5-922	21	October 27-922	41	Weakness of hind-limbs. Emaciation. Improvement, with partial recovery. From the paresis there remains a slight atrophy.				
17	54	fox-terrier ♂	blood of dog inoc. 41	August 16-922	armadillo	September 25-922	40	September 25-922	40	Paresis of hind-limbs which becomes more accentuated on the right. Recovery.				
18	55	street-dog adult ♀	blood of guinea-pigs	January 30-923	armadillo	February 8-923	9	March 14-923	44	Emaciation. Paralysis of hind-limbs. Progress of paralysis and, onset of convulsive attacks. Fever on seventh day, temp. 40°, 2C.	killed	March 17-923	47	This dog had been inoc. on Aug. 16-922 with 20 c.c. of filtered blood and nervous tissue of dog '41, without showing any symptoms of distemper or any paralysis. Later inoculated whith *Shizotrypanum*, it showed paralysis.
19	56	street-dog adult ♂	blood of dog inoc. 29	August 16-922				December 7-922	112	Paralysis.	died	December 13-922	130	
20	61	great-dane adult ♂	blood of guinea-pig inoc. with blood of dog inoc. 23	August 16-922	armadillo	September 2 922	17	November 13-922	28	Paralysis. Emaciation. Edema. Later paresis of hind-limbs.	killed			
21	62	street-dog adult ♀	blood inoc. 44	August 16-922	armadillo			September 18-922	33	Titubation. Paresis of limbs. Movement of *manège* towards left. Tremor. Spreading out of limbs so as to maintain equilibrium. Rapid accentuation of paralysis.				
22	66	adult street-dog (old) ♀	suspension of blood of inoc. dog 44	September 6-922				October 27-922	31	Paresis of the four limbs. Titubation, almost with inability to remain standing.				A puppy inoculated on the Oct. 27-922 with blood from this dog showed *Schizotrypanum* in the blood.
23	69	street-dog adult ♀	blood of dog 44	September 6-922	armadillo	September 26-922	20	October 12-922	36	Paresis of the right hind-leg, attaining later the fore-limb. Mucopurulent secretion from conjunctivæ. Double keratitis. Paralysis becomes more accentuated principally on hind-limbs.	sacrif.	11-XII-922	96	
24	121	adult ♂	blood of puppy	June 23-923	armadillo	July 5-923	12	July 24-923	29	Paralysis.	died	July 25-923	30	
25	143	street-dog adult ♂	blood of puppy	January 15-924	armadillo	January 24-924	9	February 15-924	30	Titubation. Difficulty in remaining standing. Weakness of the four limbs.	died	February 17-924	33	Not made use of.
26	148	street-dog adult ♀	blood of guinea-pig	February 6-924	armadillo	February 16-924	10	March 1-924	24	Titubation. Weakness of hind-limbs. Bleary eyes. Sickly appearance.	died	March 3-924	26	Not made use of.
27	149	street-dog adult ♀	blood of guinea-pig	February 6-924	armadillo	February 16-924	10	March 8-924	31	Staggering walk. Titubation becomes more marked. Paresis of fore-limbs. Symptoms become rapidly more marked.	killed	March 10-924	33	
28	152	Fox-terrier adult ♀	blood of dog 143	February 15-924	armadillo	March 1-924	15	March 6-924	20	Paralysis. Convulsions; weakness of limbs. Staggering walk.	died	March 9-924	23	This dog sent by the Department of "Limpeza Publica" at the same time as n. 143, always remained in good health up to the time of inoculation.
29	153	street-dog adult ♂	blood of dog 152	March 1-924	armadillo	March 19-924	18	March 25-024	24	Emaciation. Titubation; paresis. Catarrhal conjunctivitis. Keratitis. Increase of paralysis and ocular secretion.	died	April 2-924	32	
30	154	street-dog adult ♂	blood of dog 152	March 1-924	armadillo	March 19-924	18	March 25-924	18	Catarrhal secretion from conjunctivæ. Paresis. Titubation. Keratitis. Paresis of the four limbs, more accentuated in the hind-limbs. The same symptoms as n. 153 but less marked.				This dog recovered by the gradual disappearance of nervous symptoms. There remained only a slight paresis of the hind-limbs. Five months before it had been inoculated with incrasing doses of distemper material.
31	158	street-dog adult ♀	blood of dog 154	April 11-924	armadillo	April 30-924	19			Paralysis. Keratitis. Itch with cutaneous ulcerations.	killed	May 30-924	49	Photographed on March 29-924. Paralysis had existed for a few days, its onset having remained unnoticed.
32	159	street-dog adult ♀	blood of puppy	April 19-924	armadillo	April 30-924	11	May 20-924	31	Diarrhoea, Emaciation. Paralysis of hind-limbs. Tendency to *manège* movements.	died			
33	163	street-dog adult ♂	blood of dog 158	May 30-924	armadillo	July 7-924	38	July 12-924	42	Keratits on the right. Ulcer of the articulation of the ankle of the fore-limbs. Paresis, principally of the fore-limbs. Keratitis on both sides. Ulcerations on left eye. Improvement of right eye.	died			
34	169	street-dog adult ♂	blood of dog 164	July 5-924	armadillo	July 29-924	24			Paralysis. Titubation. Prompt tiredness. Keratitis.	died	August 9-924	35	
35	175	street-dog adult young ♂	blood of puppy	September 18-924		September 25-924	7	October 13-924	25	Bilateral keratitis. Tendency to leaning towards the left. Paralysis.	died	October 15-924	27	
36	176	street-dog adult ♂	blood of heavily infected puppy	September 20-IX-924	armadillo			Oct. 18-924	28	Paresis of the four limbs Uncertain walk with frequent falling. Diarrhoea with mucus and blood.	died	October 18-924	28	Death on the same day on which paralyses was noticed.
37	178	street-dog adult ♂	blood of guinea-pig	October 24-924	armadillo	September 6-924		December 23-924	30	Intense paralysis of the limbs. Standing difficult. Prompt falling down while walking. Oct. 25-924, convulsions; paralysis is more marked. Standing is only performed with great difficulty.	killed	September 25-924	32	This dog was inoc. with Schizotr. on the same day as another dog. The latter did not have paralyses.
38	182	street-dog adult ♀	blood of heavily infected puppy	December 26-924	armadillo			January 27-925	32	Intense keratitis on left eye. Slight keratitis on right. Titubation; slight paresis of the hind-limbs. Jan. 28: the same symptoms but more marked. Jan. 29, to. Feb. 4: lively, moderately well-nourished.	alive	—	—	This dog had an ulcer at the site of inoculation, as inoculation had been made with material from a dead pup (cadaveric infection).
39	189	street-dog adult ♂	blood of guinea-pig	January 8-925	armadillo	January 16-925		January 28-925	20	Paralysis of the 4 limbs. Slight clouding of the cornea with catarrhal discharge from eye. Paralysis has become more marked, the animal remains almost always lying down. Paralysis very accentuated with ensuing coma which lasted about 12 hours, more or less.	killed (chloroforme)	February 3-925	26	This bitch gave birth on Jan. 3, soon before she was killed, to two embryos which were dead and macerated.

Nervous symptoms appear early. Emaciation and sadness are accompanied by locomotory disorders, so that movements halting, are unsteady, with a tendency to falling and marked astasia (cf. Fig. 1, Plate 38). Weakness goes over into paralysis (cf. Fig. 7, Plate 41). which evolves rapidly, involving the four limbs so that the animals lie on the ground (cf. Fig. 8, Plate 41), generally with intense dyspnoea, as well.

Paralysis has a predilection for the hind limbs (cf. Fig. 4, Plate 39) and offends either one or both of them. It is less common in the fore limbs.

Beside the halting gait there is also titubation and lack of cerebellar coordination; the animals stand with legs wide apart and oscillating; they walk in a zig-zag fashion. At other times there is a tendency to adopt a circular motion pending to one side, or to fall, always on the same side, to which the head is turned. Tonic and clonic convulsions (cf. Fig. 2, Plate 38 and Fig. 3, Plate 39) followed by repeated fits of coma are frequent. In some cases the atrophy of the paralysed muscles is very striking.

Paralysis increases rapidly and death ensues within a few days. There are some cases however which last longer showing alternative turns for better or for worse. In rare instances the animal gets well and recovers its movements and general state of health.

The sphincters do not seem to suffer since there is no difficulty in retaining urine and faeces.

Paralysis is seen most commonly between the 25 and the 35th days and death generally occurs between the thirthieth and the fortieth days.

In the last re-inoculations with repeated passages there is a tendency to greater regularity in the fixation of the time at which paralysis occurs, the period becoming shorter.

Paralysis occurred in 39 of the dogs inoculated and only two survived.

The accompanying table gives a synopsis of the observations made on the 39 dogs which became paralysed and points out the most interesting occurrences.

DIFFERENTIAL DIAGNOSIS

Knowing that so wide-spread a disease as canine distemper includes a paralytic form, it will be easily understood that our first care was to make sure that in the animals under observation there was no association between distemper and schizotrypanosis.

The animals experimented on were kept each in its own kennel on the grounds of the Hospital OSWALDO CRUZ (cf. Fig. 9, Plate 42).

As has been stated before these were adult dogs captured by the street service of «Limpeza Publica» in the thoroughpares of Rio de Janeiro. In these kennels we kept animals inoculated with *Schizotrypanum*, as well as others not inoculated left as controls. The latter never showed any paralyse, as they should have if there had been any distemper of a particular virulence about the kennels, or any other epizootic disease. These animals were inoculated later on with *Schizotrypanum;* only after that inoculation did they show the paralysis, which appears in inoculated animals with regularity within a month, more or less.

In spite of these precautions we still made the following experiments.

Exp. 1.—The central nervous system of a dog which became paralytic after being inoculated with *Schizotrypanum* was used for intracraneal injection in 4 rabbits. Rabbits are sensitive to the virus of canine distemper. One of the rabbits died after four days, another on the 10th. day. The other two survived. None of them showed any catar-

rhal inflammation of conjunctivae or pituitary membrane, or any paralysis.

Exp. 2.—The central nervous system of a dog inoculated with *Schizotrypanum* and having become paralysed (Dog n. 44) was used for subcutaneous injection. The animal chosed was a puppy raised in the laboratory and guarded from contamination with distemper. The inoculation was made on Sept. 6, 1922. Up to Sept. 19 he had shown no coryza, conjunctivitis or cough, nor any of the nervous symptoms of distemper.

On Sept. 19th. trypanosomes were to be found in the blood, on Sept. 28 in large numbers. On Jan. 31, 1923 death supervened.

Exp. 3.—A litter of three 15-day old puppies (an age at which they should be very receptive to distemper) were painted on the snout and nasal cavities with the nasal discharge of a paralysed dog inoculated with *Schizotrypanum* (Dog n. 44).

They survived without showing any symptoms of distemper.

Exp. 4.—A litter of 4 puppies of less than 8 days of age and their mother were left together with a bitch inoculated with *Schizotrypanum* and paralysed (Dog n. 67) and together with Dogs n. 87, also inoculated, from Sept. 9, 1922 on to Dec. 15, 1922.

These dogs showed nothing till Sept. 22 when two of them n. 3 and 4, were inoculated with the blood of another puppy (n. 5 of inoculation 89) containing trypanosomes.

On Sept. 27, 1922, these puppies, n. 3 and n. 4, had trypanosomes in the peripheric circulation. By Dec. 4, 1922, n. 3 was very thin and n. 4 was found dead. The two puppies not inoculated were quite fit.

On Dec. 5, 1922, puppy n. 3, which is by now rather emaciated, somnolent and indifferent but has no paralysis, having plenty of trypanosomes in the blood, is killed. Up to Dec. 15, 1922, the puppies not inoculated showed nothing out of the way, except an abscess on the leg of n. 1.

Exp. 5.—On Aug. 16, 1922 an adult bitch is inoculated with 20 c. c. of fluid obtained by filtering through a BERKEFELD filter the blood of a dog inoculated with *Schizotrypanum* and having shown paralysis (dog n. 41).

Up to Jan. 30, 1923 no paralysis or catarrhal discharge from mucous membranes had been seen. No trypanosomes were found in the blood.

On this date, Jan. 30, 1923, i. e. five and a half months after having been inoculated with the filtered blood and having been always exposed to other paralytic dogs, this animal was given an injection of 5 c. c. of the blood of a guinea-pig (inoc. 109) containing *Schizotrypanum cruzi* (armadillo-strain).

On Feb. 8, 1923, *Schizotrypanum* was to be found in the peripheric circulation.

On March 14, 1923, emaciation and paralysis of hind limbs was seen.

On March 17, 1923 the paralysis was more pronounced as well as convulsive seizures. The animal is killed. Histologic examination shows lesions of the nervous system in which *Schizotrypanum* is to be found. This bitch is in the table with the indication Inoc. 55.

Exp. 6.—An adult dog was superimmunised against distemper so that it should furnish serum against this disease (Dr. O. C. MAGALHÃES).

This animal did not show any paralysis; five months later it was given to us by the doctor who had made use of it. It was then inoculated with 3 c. c. of blood from a paralytic bitch (Dog n. 152). This animal then became paralysed, and is included in our table with the indication Inoc. n. 154.

From the foregoing experiments it may be concluded that the search for

distemper through inoculation of the central nervous system of paralysed dogs to receptive animals (rabbit, puppy as yet not contamined) never gave any results.

Canine distemper is caused by a filterable virus, yet the inoculation of the filtered blood of one of our paralysed dogs in another dog gave negative results. This same dog later injected with guinea-pig blood containing *Schizotrypanum*, became paralysed and its central nervous system showed lesions in which the parasite was to be seen.

Besides all this, the nasal mucus of paralysed dogs (a very virulent material when the disease is distemper) did not produce distemper on puppies of a few days, which ought to have been very receptive to distemper and on which it was rubbed. The same negative results were obtained by exposing to contagion from paralysed dogs puppies of a few days of age.

PATHOLOGY.

MACROSCOPICAL EXAMINATION.

Macroscopical examination of the central nervous system gave allways negative results: no oedema, congestion or haemorrhage, whether meningeal or parenchymatous, were to be seen.

In one case alone, oedema and congestion with a cloudy appearance of the meninges were to be found, but as there was also secondary infection, arising from infected ulcers, this could hardly be considered an exception to the rule.

MICROSCOPIC LESIONS

I. INFLAMMATORY LESIONS.

The lesions shown in this type of encephalo-myelitis are essentially made up of small foci, in the neighbourhood of praecapillary or capillary vessels, distributed without system in the white and gray matter of the brain and spinal cord; the cerebellum is less often affected; the foci, when seen in the cerebellum, are also found indifferently in any layer, and have been found in the molecular stratum, in that of small granular cells and in the white matter.

The structure of each of these foci necessarily varies with its age. In each dog, however, the foci usually show uniform characters, indicating that they arose about the same time.

The foci which appear to us to be in their first stages are made up of relatively large cells, with a rounded or slightly curved and almost always excentric nucleus, displaying its chromatin disposed in quite visible granunules. The protoplasm is voluminous and reveals pseudopodous processes. The whole morphology corresponds therefore to that of the endothelial leucocyte or macrophagous polyblast (cf. Fig. 29, Plate 31). In these foci, lymphocytes and above all plasma-cells are also to be found, generally close to the vessels. Examination of preparations stained by the usual methods is misleading as concern the importance of plasma-cells in the process studied, and would make them seem rather scarce. In preparations stained with UNNA-PAPPENHEIM's Methyl-green-Pyronin, however, the cells are plentiful in the exudation. This is specially so in the case of the process seen in the leptomeninges, in which the perivascular infiltration by plasma-cells makes a most interesting picture in preparations stained by the UNNA-PAPPENHEIM stain (cf. Fig. 17, Plate 47 and pags. 20 to 23, Plate 49). It must be pointed out, however, that in no case is this type of cell dominant, as SPIELMEYER describes it in sleeping-sickness.

In foci made up of relatively few

cells (6 to 15 in the field of a histologic section) the parasite is rarely found; there is no desintegration of the nervous substance nor haemorrhage.

Of the macrophages we described in the foci, part, at least, must arise from cells of the blood («mesodermic» macrophages, or endothedothelial leucocytes); this would seem undeniable in view of the close proximity of foci and vascular lesions (cf. Fig. 10, Plate 43 and fig. 13, Plate 45). Certain characters have led us to believe that they were in some extent of another origin. As a matter of fact the transformation of these macrophagous cells into cells with fatty granules («Körnchenzellen», «Gitterzellen«, «Abräumzellen») could be seen to occur with regularity in our different preparations and took place in a considerable scale. The fatty contents of the cells could be made clear in preparations stained with Scharlach Red (Scharlachrot) (Cf. Figs. 18 and 19, Plate 48) and by ALZHEIMER's VI method (Cf. Figs. 18 and 19, Plate 50).

Recent research, specially that undertaken by RIO HORTEGA, METZ and SPATZ and by PENFIELD, shows that these cells with fatty granular contents arise mostly out of the «microglia», a variety of cells which HORTEGA includes among the cells pertaining to the «third element» of the neuroglia.

In the process of encephalomyelitis present in experimental schizotrypanosis fatty-granular cells are found in the foci in a constant manner at a certain period of the lesion, and would seem to arise form the micrologia. They might be called «microglial macrophagous cells».

Although no direct proof is available, such as might be obtained by the application of HORTEGA's method, it may be said that some facts we have observed bear out this point of view.

Thus we had our attention immediately called to the absence of *Schizotrypanum* (leishmaniform bodies) in the cytoplasm of the endothelial leucocytes (macrophages) of the infiltrated leptomeninges, standing in sharp contrast to the great numbers of these parasites seen in the cytoplasm of cells of the same appearance in the foci found in the nervous tissue. This fact led us to suppose that the macrophages of the nervous tissue were at same extent different of the mesodermic macrophage or endothelial leucocyte.

Many parasites (leishmaniform bodies) are seen, with a normal appearance, within these (microglial) macrophages, in which they evidently undergo a development, so as to become fusiform and attain the flagellate form, and, it would seem that within these cells they find very favourable circumstances for living as is the case with lepra bacilli in the lepra cell.

This facile and convenient parasitism is all the more striking, if be borne in mind that the endothelial leucocytes which, with lymphocytes and plasma-cells go to make up the exudate in myocarditis caused by *Schizotrypanum* are seldom parasited, and the few exceptions contain a small number of parasites undergoing degenerative process, which indicate the destructive action of the endothelial leucocyte on the parasite.

In foci at a more advanced stage, the transformation of macrophages in granular-fatty cells becomes general; the latter are clearly dominant. At this stage there is an evident desintegration of the nervous substance to judge from the formation of fissures or cavities in the fundamental substance. Granular-fatty cells are well evidenced by ALZHEIMER's methods I and VI.

At a later stage of its development, the focus of encephalo-myelitis shows a «dispersion» of the fatty-granular cells; the focus attains a considerable size,

with indistinct limits and an unclear outline. Fig. 18, Plate 48 of a preparation stained by Scharlachrot gives an idea of this aspect.

The oldest foci we had a chance to see were made up of cells with a fusiform, elongate nucleus and a branching protoplasm and apparently corresponding to the fibrous neuroglia. No macrophages are then seen; the parasites are found at times.

VASCULAR LESIONS

Inflammatory lesions also affect the vessels of the brain and spinal cord; these vessels take an active part in the process of encephalo-myelitis studied. Progressive vascular lesions, however involving an apparent or real formation of new vessels are no prominent feature of the process under consideration.

As a matter of fact, when a more affected part of the nervous system is examined under low magnification (Fig. 11, Plate 44) the small vessels appear more prominent than they would under ordinary conditions. But this is merely due to perivascular or lymphatic infiltration of the vessels and not to a numerical increase of vessels.

Vascular lesions show a remarkable constancy in their location in the vicinity of the foci of encephalomyelitis. Whatever the age of the focus there is to be seen either an infiltration of the adventitia, or of this and the lymphatic sheath of the vessel or even an infiltration affecting the parenchyma as well and making up a really perivascular infiltration. The infiltrating cells, endothelial leucocytes, lymphocytes and plasma-cells are at first lodged in the adventitia of the vessels and the lymphatic space then appears as a clear halo round the vessels. As the progress of the inflammation should be more intense from the outstart, the lymphatic sheaths are themselves invaded by the exudate cells, among which the endothelial leucocytes are always dominant (cf. Fig. 13, Plate 45). Parasites *(Schizotrpyanum cruzi* with the morphology of a leishmanform body) are rarely to be seen in the interior of these endothelial leucytes infiltrating the adventitia or the lymphatic spaces of vessels, in evident contrast with the intensely parasited (microglial ?) macrophages often seen in the foci of encephalo-myelitis.

This vascular infiltration is never seen with the appearance of the diffuse dissemination met with in sleeping-sickness, or in some zones of the central nervous system in encephalitis lethargica. It is limited, in a single histologic section, to one or another vessel and to a certain segement of the vessel and is always in the neighbourhood of a focus of encephalo-myelitis.

Another lesion not uncommonly seen in the small vessels located at the edge of or within the foci is the proliferation of the endothelium and the partial or complete obliteration of the lumen of the vessel.

II. LESIONS OF THE NERVOUS CELL.

The cells most commonly displaying lesions are PURKINJE's cells in the cerebellum and, next, the big pyramidal cells of the cortex.

The lesions of PURKINJE's cerebellar cells are so intense in some animals as to immediately suggest some connection between them and the disturbances of equilibrium which are one of the most prominent and precocious symptoms of infected dogs.

The lesions of PURKINJE's cells consist in swelling and globosity of the cell, with perinuclear chromatolysis and considerable nuclear lesions such as disappearance of the nuclear membrane, swelling and vacuolisation of the nucleolus. In other cases the cell

is reduced, retracted and the arborisations can be followed along a great extension (cf. Fig. 31, Plate 51).

These lesions are sometimes seen in a row of neighbouring cells and not in the following, or then they are seen in the cells of one stratum.

The lesions of the pyramidal cells just consist of chromatolysis; another common lesion of the cortex is neuronophagia.

The multipolar cells of the spinal cord are usually well preserved: it is even an interesting fact to be seen, a nervous cell in the spinal cord, lying in the neighbourhood of foci of encephalomyelitis and showing a picture of perfectly normal NISSL's bodies.

III LESIONS OF THE NEUROGLIA.

We will not return to the lesions of the *microglia,* one of the kinds of cells known as the «third element» of the neuroglia, since we have referred to them before.

These cells, «the most numerous in the brain centres after the nervous cell itself», according to HORTEGA, are usually the origin of the fatty-granular cells, which may, on a lesser scale, develop from mesodermic cells or even from the *fibrous* neuroglia (astrocytes).

As it is, the part played by lesions of the microglia in the sense of an intense transformation into fatty-granular cells is of considerable importance and is perhaps even the most striking process seen in the encephalo-myelitis caused by experimental schizotrypanosis (cf. Fig. 13, Plate 48 and fig. 20, Plate 49).

Cells of the protoplasmic neuroglia are increased in number and in size in the neighbourhood of the foci (cf. Figs. 15 and 16, Plate 46). These cells remain isolated and as if limiting the focus. In our material neuroglia cells were also seen undergoing amoeboid transformation, as is shown by the figures. In figures 25 and 26, Plate 50 amoeboid neuroglia cells stained by ALZHEIMER's method IV are depicted. Fig. 27, Plate 50 shows one of these cells stained by the same specific method and containing parasites. *Schizotrypanum cruzi* is thus found, in the central nervous system, either within (microglial ?) macrophages, (cf. figs. 28, 33, 34 and 36, Plate 51) either within amoeboid neuroglia (cf. Fig. 27, Plate 50).

IV. MENINGEAL LESIONS.

The dura-mater showed a normal structure in every case in which it was examined, which in nearly every case was in sections of the spinal cord. It has already been stated that macroscopically no haemorrhages (haemorrhagic pachymeningitis) was to be seen.

The leptomeninges are on the other hand often the seat of a discrete inflammation, which is at times (principally over the cerebellum) of a haemorrhagic nature.

In no case does the process of leptomeningitis occupy a large extension, and usually it is seen in one or another point of the preparation. No purulent leptomeningitis was ever seen.

The picture seen is generally that of an infiltration of the meshes of the leptomeninges by an exudation of mononuclears occupying small areas. In the exudation, the endothelial leucocyte (mesodermic macrophage) certainly prevails. Besides this type of cell, lymphocytes, plasma-cells and, at times, as has been pointed out, red blood-corpuscles are found.

The lesions of the vessels of the leptomeninges are more extensive. It is not difficult, on longitudinal sections of the spinal cord, to follow a small arterial or venous vessel, with its adventitia considerably infiltrated by endothelial leucocytes and plasma-

cells, along a great extension. (Cf. Figs. 2 and 22, Plate 49).

Sometimes the lesions of the leptomeninges are found facing a superficially located focus of encephalo-myelitis, just as if there had been a discrete propagation of the inflammation. As a rule they do not appear to be dependent on the inflammation of the nervous substance. This is specially evident in the case of the cerebellum where there are usually few if any foci, while leptomeningitis, at times haemorrhagic leptomeningitis, is common.

In one preparation of the spinal cord, foci with endothelial leucocytes and *Schizotrypanum* was seen in the substance of one of the anterior roots.

The process of leptomeningitis of dogs with experimental schizotrypanosis is exactly similar, as regards cellular constitution and location, to that seen by us in some human cases of the acute form of CHAGAS' disease. We never saw any lesion of haemorrhagic nature in the human process, however.

The following-protocols are of some of the dogs selected from different stages of the process, and on which the general description that has just been given is based.

Dog. n. 23.

Killed on the 53rd day of the disease.

Section I. Spinal cord (Hæmatoxylin-eosin). The section shows a number of foci, both in the white and grey matter. On one side 7 foci in the white and 5 in the grey matter were counted, whilst on the other side there were 1 focus in the white and about 5 in the grey matter. In the grey matter the foci are located mostly in the anterior horns. The outlines are rather nuclear, and when the foci are neighbouring each other the exsudate becomes rather diffuse in nature. The small arterial vessels, even in the grey matter, show a pronounced mononuclear infiltration of the lymphatic spaces. The great number of parasites in the foci is surprising. The leptomeninges show a discrete infiltration; of a non-perivascular nature. In the immediate vicinity of the small arterial vessels no infiltration is recognised.

In the foci the fatty-granular cells (*«Gitterzellen»*) prevail. In the plasma of these as in that of the endothelial leucocytes there are parasites.

Section II. Spinal cord (Hæmatoxylin-eosin). Five foci in the white matter; about 7 in the grey, closely connected and difficult to separate. «*Gitterzellen*», macrophages and many parasites. Leptomeninges unaffected, ependyma normal.

Section III. Spinal cord (Phosphomolybdic hæmatoxylim methode, with previous fixation in WEIGERT's *Gliabeize* with formaldehyde).

Proliferation of the neuroglia cells round the foci Some of them attain large dimensions. The fatty-granular cells are shown up well by this method. Cells of the amœboid neuroglia are recognised, some of them. containing parasites.

Section IV. Cerebral cortex (Hæmatoxylin-eosin). No infiltration of the leptomeninges which appear normal. In the nervous substance about 9 foci are to be seen out clearly. They are found in the innermost part of the grey matter and in the withe matter in the immediate vicinity of the small vessels.

Section V. Cerebral cortex (Hæmatoxylin-eosin). 1_4 small foci mostly in the deepest layer of the cortex (stratum of polymorphous cells?) and in the white matter. None in the stratum of pyramidal cells. The foci are all small. In a larger one the cells are made up of macrophages and fatty-granular cells. The parasite, in the shape of a leishmanfoim body is found in many of the cells. *Each one of the macrophages, in the field, contains the parasite.* Infiltration of the vessels is perivascular and in the lymph-spaces but is not very marked. In certain parts of the white substance there seems to be a dicrete diffuse infiltration. One of the foci remains in contiguity with the lymph-space of a prae-capillary vessel, and is remarkable by the numbers of parasites inside the macrophages (which in this cases are perhaps *endothelial leucocytes or cells from the adventitia*). Leptomeninges with no lesions.

Section VI. Brain (Ammon's horn) (H. E.) Five foci, 4 in the white and 1 in the grey matter. The larger foci show a great many «Gitterzellen». The smaller contain macrophages inside which are seen parasites. Infiltration of the lymph-spaces of the vessels only in the foci. Leptomeninges with no lesions.

Section VII. Brain [Ammon's horn.] [H. E.] Four large foci with oedema and desintegration of nervous tissue round them. They display a number of fatty-granular cells and plasma-cells, inside which the parasites are seen in abundance. In some of these cells 60 or 70 parasites in the shape of leihmaniform bodies could be seen. The foci appear to be at the stage of diffusion of the fatty-granular cells. In these large foci polymorphonucleares are not scarce.

Section VIII. Cerebellum [H. E.] Three foci in the molecular stratum. These foci are small and made up of macrophages containing many parasites.

Section IX. Cerebellum (Pappenheim-Unna's method). Infiltration of leptomeningeal vessels by palsma cells.

Dog. n. 10.

Section I. Spinal cord at expancion (H. E.) Four foci in the white matter, 2 at the limits of the anterior horns with the white matter and one smaller in the grey matter. The lesions are clearly unilateral.

The most extensive focus in the white substance [which attains the periphery] shows an indistinct outline; there is evident desintegration of the nervous substance and the focus is essentially mad up of fatty-granular cells among which are seen big arborescent neuroglia cells [?]. The other foci, which are also extensive, are made up of macrophages and plasma-cells. Cells with the appearance of «Gitterzellen» are scarce. There is an evident connection between the foci and vessels: infiltration of the lymph-spaces in the vicinity of the foci. The vesseis [capillary] in the most extensive focus are conspicuos owing to the infiltration of the lymph-spaces. Some of these vessels show a tumefaction of the covering endothe,ium with a partial obliteration of the lumen of the vesel. New formation by sprouting cannot be seen clearly. Plasma cells are easily found iu the exsudate, either in the lymph-spaces or in the foci. In the latter, after the macrophages which are clearly the dominant element, they are the most frequently seen type of cell. In the older foci, in which «*Gitterzellen*» are prevalent, plasma-cells are rare.

There are no diffuse inflammatory lesions.

Leptomeninges and dura are not well shown up in the section. Facing the large peripheric focus in the white matter, there is a cellular infiltration of the leptomeninges. The lumen of the ependyma is free; there is no proliferation of cells.

The nervous cells, as far as is to be judged from this method, retain a normal structure.

No parasites were found in the foci [although 3 sections of the block were examined].

Section II. Cerebellum [H.—e*]*. No foci or perivascular infiltration. Leptomeninges congested in some points, their meshes infiltrated by mononuclears [macrophages and lymphocytes] and red blood-corpuscles. Lesions of PURKINJE's cells, as far as can be judged by this method, are to be found but are scarce.

Section III. Cerebral cortex [H.—e.]. No foci. No perivascular infiltration; some praecapillaries have their lumen stuffed with mononuelears so that they imitate the appearance of histologic sections of cases of leucaemia. The lymphatic spaces of the same vessle are free. This leucaemia appearance of the vossels is not uniformily seen in all vessels seen in the section some of them show mostly red blood-corpuscles in their lumen. The same leucaemic appearance is shown by small vessels of the leptomeninges; in the meshes of these membranes the exudation is however very inconsiderable.

Dog. n. 11.

Killed.

Section I. Spinal cord at expansion [H.—e.]. The foci are located on one half of the cord. There are seven of them, of which 4 are in the grey matter and the rest at the limits of the white matter with the grey but clearly in the white matter. The foci are very extensive and show an evident loss of nervous substance. The cells dominant in the lesions are fatty-granular cells *[«Gitterzellen»]*. At the outskirts of the foci there are seen, mixed with the «*Gitterzellen*», macrophages and plasma-cells. The latter are never prevalent, however, in the foci. In the vessels [praecapillares] round the foci there is considerable infiltration of the lymphatic space. In these the cells are mostly plasma cells and lymphocytes.

One point, noughbouring infiltrated vessels and old foci give the impression, at first sight, of a diffuse inflammatory process, which does not, as a matter of fact, occur.

Leptomeninges with their meshes infiltrated. This infiltration is limited and occurs in the vicinity of foci located at the periphery of the white substance. The lesions of the meninges represent possibly propagation of the process of myelitis. Dura-mater normal.

In the extensive foci described, *Schizotrypanum cruzi* was not found, in spite of painstaking search.

Section II. Spinal cord *(*dorsal*)* *[*H,—e.*]*. 17 foci spread indistinctely over white and grey matter. The foci are more plentiful but not as big as in section I. In none of them is there evident loss of nervous substance. The foci are made up mostly of macrophages; cells are seen with the appearance of «*Gitterzellen*» but not in large numbers. In some of the foci *Schizotrypanum cruzi* is seen *[*Leishmaniform bodies*]* making agglomerations of a considerable size in some places. In the exudation seen in the lymph-spaces none of the parasites were found.

Section. III. Spinal cord, dorsal region. [H.—e.]. Only 2 foci are found; they are small, one in the white matter, one in the grey. No parasites are found within the foci.

Section IV. Spinal cord, dorsal region. [H.—e*]* Seven foci are seen, some of them fair-sized. In one of them a few parasites *[*2 or 3 leishmaniform bodies*]* are seen in the plasma of the cells.

Section. V. Cerebellum. *[*H.—e.*]* No inflammatory foci. In the white matter, pin points of hæmorrhage are seen. Capillaries and præcapillary vessels are entirely free of exudation in their lymph-spaces. In spite of the staining process used intense lesions of PURKINJE's cells are to be seen *[*pycnosis of nucleus, vesicular appearance of nucleolus, homogeneisation, globosity and eosinophilia of cytoplasm*]*.

Section VI. Brain Cortex—H.—e. Lesions much less marked than in spinal cord. In the white matter there is one extensive focus with loss of nervous substance, as well as a smaller focus. In another section of the white matter there is an area of diffuse infiltration which has not led up to focus formation. Infiltration of the lymphatic sheats only in the neighbourhood of the focus. In the lymphatic spaces elsewhere there is no infiltration. The largest focus appears to be undergoing organisation, round its edges there are seen ma-

ny arborescent cells (neurog,ia? fibroblasts ?). In the middle there are mononuclears. Fatty-granular cells are not plentiful as in the spinal cord. The parasite, which was looked for in three sections from this block, was not found.

Section VII. Brain, AMMON's horn. H.– e There is a small focus made up of macrophages and plasma cells, in the immediate neighbourhood of a capillary. In this focus *Schizotrypanum cruzi* is found.

Inoc. Dog. 19.

Spinal cord at expansion H.—e. Seven foci in the grey matter, 3 in the white matter, 7 on the borderline as well as other foci less clearly differentiated. The largest focus found in the white substance is formed by macrophages between which are seen large cells, with a conspicuos nucleolus and a clearly arborescent protoplasm (neuroglia ?, fibroblasts ?). There are no clearly differentiated «*Gitterzellen*».

Almost all the smaller foci are made up of arborescent cells, similar to the ones already pointed out before (cells of the fibrous neuroglia? fibroblasts?). These are in the large majority so that the inflammatory foci have the appearance of old foci undergoing cicatrisation. There are some plasma-cells, but they are not predominant. There is no diffuse inflammatory process. Dura-mater and leptomeninges show no lesions, ependymal duct normal.

In one of the smaller foci, wsich appears to be made up of fibrous neuroglia or of fibroblasts, *Schizotrypanum cruzi* 8 or 10 leishmaniform bodies are seen. The parasites are scarce in the foci. In another focus the parasites are within a macrophage, which is the type of cell predominant in that particular focus.

Section II. Cerebellum H.—e. No foci. No infiltration of the lymphatic spaces round the vessels. No diffuse inflammatory process. Discrete mononuclear infiltration of the leptomeninges. The vessels show a diffuse infiltration of the adventitia by plasma-cells.

Section III. Brain, Ammon's horn. H.—e. Ten different foci, mostly superficial, are seen. The foci show a simillar structure to those of the spinal cord. They have the appearance of foci undergoing cicatrization; in all of them cells of the fibrous neuroglia are predomiant. Infiltration of the lymph-spaces round the vessels in the neighbourhood of the foci. Plasma-cells present. Discontinuous infiltration of the leptomeninges, at times, but not always, in the neighbourhood of the foci.

Inoc. Dog. n. 25.

Section I. Spinal cord. H.—e. Three foci in the white matter of one side. On the other side a small focus in the white matter of the anterior funiculi and one in the grey matter. The foci are made up mostly of macrophages. No parasites found. No clear perivascular inliltration. In the grey matter, on both sides, punctiform hæmorrhages.

Section II. Brain, Cortex. H.—e. Ten foci in the grey matter. They are small foci made up mostly of macrophages, evidently in connection with the vessels, which show an infiltration of the adventia and of the lymphatic sheath. In the foci there are no hæmorrhages. Congestion. In some foci, it is not uncommon to see macrophages joined together to form a giant cell. Near one of the foci, there is intense proliferation of the endothelium of a capillary with partial obliteration of its lumen. The leptomeninges show, in their meshes, red blood-corpnscles and mononuclears, as well as plasma-cells; this exudation is more abundant round the vessels. No parasites were found in the foci or in the meningeal exudation. These are small foci and appear to be of recent formation.

Section II. Brain, Cortex. NISSL's toluidin-blue method. The large and small pyramidal cells show the lesions described by NISSL in their first stages These are seen in isolated cases. Neuronophagism is also seen discretely.

Section III. Cerebellum. Hæmat oxylin-Van Gieson· A focus is seen in the white substance, with no parasites. Lesions of the cells of PURKIN/E's, as far as is to be judged from sections with this stain, are considerable.

Inoc. Dog. n. 27.

Section I. Spinal cord [NISSL's toluidin-blue method). More than 10 foci were counted in the white substance and 3 or 4 in the grey. The cells show a normal appearance as regards chromophile granules. A large cell of the anterior horn, found right in a focus of myelitis, has retained normal NISSL bodies. The foci are made up of macrophages and of some plasma-cells; there are no «*Gitterzellen*». With this method no parasites were seen, which, as we were able to ascertain, is due to total unstaining of *Schizotrypanum* in the differentiation stage of NISSL's method. Sections of the roots of the spinal nerves close to the cord, show inflammatory foci made up of macrophges in whose protoplasm is found *Schizotrypanum*. The vessels of the intrafascicular connective tissue shows perivascular infiltration.

Section II. Cerebral cortex [NISSL's method). The zone caught in the section is that of the large pyramidal cells; lesions of the cells are not marked. Parasites are not shown up.

Section III. Cerebral cortex. (H —e.). Fourteen foci in the white substance, located near the vessels, some of which show perivascular infiltration and infiltration of their lymphatic sheaths.

The foci are mostly small. One however is more extensive and shows desintegration of the nervous substance. The predominant cells are fatty-granular and macrophages. There are plasma-cells as well. *Schyzotrypanum* is found abundantly in the foci, sometimes in the plasma of fatty-granular cells.

1 There is a more or less diffuse hæmorrhagic eptomeningitis. The exudate is mononuclear.

Section IV. Cerebellum (H.—e.). Contains no foci. Hæmorrhagic leptomeningitis with mononuclear exudate.

Dog. n. 44.

Killed 47 days after inoculation.

Section I. Spinal cord. (H.—e.). On one side there ore pleuty of foci both in the white and the grey matter. On the other side there are three foci, located 2 in the grey matter and one at the outskirts of the grey matter and white. Leptomeninges distended with a diffuse mononuclear exudate.

The foci are made up of branching cells (fibroblasts? fibrous neuroglia ?) and contain a good many cells brought together by the exudation process (plasma-cells, lymphocytes and macrophages); there are no fatty-granular cells. One of the connective-tissue septa running out from the leptomeninges and conveyneg the vessels shows at one place a fibrous thickening, the branching cells which are to be seen here shows a morphology similar to those of the foci. No parasites were found in the foci,

Section II. Cerebral cortex. (H.—e.). Two extensive foci are seen in the white matter; one of them shows the structure as the foci described in the spinal cord. In the other one the vessels show progressive lesion (new-formation of vessels), the cells are ramified or branching (fibroblasts ? fibrous neuroglia ?). In the sheaths of the vessels, infiltration with plenty of plasma-cells.

No parasites were found in the foci.

Dog. n. 158.

Killed on the 49th day of disease.

Pathology. Leptomeninges show a diffuse plasma-cell infiltration, the plasma-cells being found round the vessels and in their immediate neighbourhood.

This lesion occurs independently of the lesions of the nervous tissue. Thus it is quite conspicuous in sections of the brain, which in this animal shows very few inflammatory foci, and in sections of the cerebellum, in which there are no inflammatory foci. The small asteries and praecapillaries running in the nervous tissue and away from the foci show no perivascular infiltration.

Focal lesions are found with ease in the spinal cord where they are seen only in the white substance. In several sections it was possible to locate them in the white substance of the antero-lateral funiculi, about the crossed pyramidal bundle. In other sections they occupied the direct cerebellar funiculus, in others the direct pyramidal tract.

In all foci it is possible to find out a vessel in most cases a small artery in others a praecapillary vessel. The vessel displays proliferation of the endothelial cells, which partly obliterate its lumen. In other foci obliteration of the lumen of the vessel appears to be complete.

Some polymorphonuclears are seen in the immediate neighbourhood of the vessel, but are never plentiful.

The most numerous cells in the central part of the focus are macrophages, some containing the parasite. Between the macrophages and round the perivascular mononuclear infiltration there are plentiful fatty-granular cells; this is the type of cell occupying the greatest extension in the focus, as was to be seén in SCHARLACH-ROT preparations. CAJAL's gold-sublimate method shows up fibrous astrocytes, in small numbers, in the zone surrounding the focus of myelitis.

In the brain few foci are found.

In the spinal cord, the foci show varying sizes. The extension oi the focus is probably connected with the date of its formation and agreeing with a greater or lesser dissemination of the granular bodies.

UNNA-PAPPENHEIM methyl-green-pyronin method. (Sections of brain and spinal cord).

There is an infiltration of plasma-cells which may be considerable, of the leptomeninges, which is to be seen even in sections which show no foci in the nervous substance.

NISSL-method. (Sections of spinal cord and brain). In the spinal cord a few nervous cells show lesions corresponding mostly to the first stages of alteration (toxic lesions) of NISSL's description. In the cerebral cortex on the other hand, the cells show frequent lesions and it is possible to count 8 or more cells in each microscopic field with a small magnification (Oc. 2, Obj. AA).

Inoc. Dog. 178.

Section I. Spinal cord (H. e.). On one side 11 foci in the white matter on the other, 4 foci in the white matter and one extensive focus in continuity with the posterior horn. Foci are small, made up principally of macrophages, inside which *Schizotrypanum cruzi* is plentiful (Leishmaniform bodies). The parasite is present in all foci. Perivascular infiltration and infiltration of the lymph sheats of the vessels near the foci. In the grey matter, there are discrete punctiform haemorrhages. Leptomeninges normal.

Section II. Cerebral cortex (H.—e.). Foci very numerous and limited to the grey matter. Foci are small, contain many parasites and are made up mostly of macrophages. There are no haemorrhages in the nervous substance. Haemorrhagic leptomeningitis, with mononuclear exudation (plasma-cells not unplentiful). There are no parasites in the meningeal exudation.

Section III. Cerebellum. (H.—VAN GIESON). A small focus in the plexiform zone, with no parasites. In the granular stratum, there are punctiform haemorrhages in several points. Infiltration of meninges moderate and irregular.

Section IV. Cerebellum. (NISSL's toluidin—blue method). The following lesions are seen:

PURKINJE Cell A. General outline of cell retained but seming to indicate a slight increase iu volume: NISSL bodies diminished, especially ronnd the nucleolus

(perinuclear chromatolysis). Nucleolus excentric. Nucleus large, clear, round aod vesicular.

PURKINJE Cell. B. Reduced in volume; more or less rounded or fusiform. Nucleus reduced and deformed, with a diffuse blue staining of the nuclear fluid and the plasma. Nuclear membrane inconspicuous. Nucleolus rather tumefied. NISSL bodies reduced in size and number specially round the nucleus which is in the centre of the cell.

PURKINJE Cell C. Reduced in volume and deformed. The centrally placed nucleus shows two depressions in which are nestling clumps of chromophile substance in dissolution. Perinuclear chromatolysis. These cellular lesions are easily found, but there is a good deal of divergence in this according to the point chosen. In some sections the lesions are found in one cell after another, in another, in they are normal.

Section V. Cerebral córtex (NISSL's toluidin-blue method). The following lesions are seen:

Large pyramidal cell A. Slightly tumefied. The vesicular nucleus shows a membrane clearer than is normal. Central position of the nucleus and conspicuos perinuclear chromatolysis.

Large pyramidal ce B. Showing at one of the poles an agglomeration of 6 neuroglia cells [neurophagia] and chromatolysis.

Large pyramidal Cell C. Retracted and wrinkled, with a central deformed nucleus of indistinct outlines and dfffuse staining. Protoplasm displaying a general dark blue stain and, at one side of its margin, a reticulate and areolar aspect. Chromatic substance piled up in great clumps at the base of the pyramid.

Almost all the large pyramidal cells show chromatolysis with which there is frequently neuronophagism.

In the other cells of the cortex, the lesions (aiterations] are inconspicuous if they exist at all.

Section VI. Spinal Cord [NISSL's method]. Multipolar cells show a normal appearance of the chromophile substance, even when they are located near the foci. Others, however; show perinucear chromatolysis.

Inoc. Dog. 118.

Killed on the 119th. day of infection.

Spinal cord. LHERMITTE's method. Cells prevailing in some foci are cells of the fibrillar neuroglia. In these foci isolated neuroglia fibrils are also stained. In their meshes other ces are found.

SCHIZOTRYPANUM CRUZI AND ENCEPHALO-MYELITIS.

In the foci of encephalo-myelitis, and, in a general way, in the central nervous system, *Schizotrypanum cruzi* is found more often in the protoplasm of macrophages (some of which probably correspond to endothelial leucocytes, others, and these appear to us to be the more plentiful, corresponding to cells having arisen from the microglia and are therefore *microglial macrophages).* It is also found in the protoplasm of fatty-granular cells, and less often in cells of the protoplasmic neuroglia. It has never been found in the nervous cell itself.

The presence of *Schizotrypanum* in the foci of encephalo-myelitis is so marked in some dogs, that one might assert that every macrophage of the exudate contained some.

In other animals, which are the less numerous, displaying foci made up in the same way, with the same term of infection and infected with the same strain of *Schizotrypanum,* for some unknown reason the parasites are few and may even be difficult to demonstrate.

Schizotrypanum may well be looked for in histologic sections stained by the usual Haematoxylin-eosin process. Excellent results are obtained in material fixed in Schaudinn's sublimate-alcohol and stained with GIEMSA's stain or with HEIDENHAIN's iron-haematoxylin.

NISSL's stain is useless, as the optimum differentiation for the disclosure of chromophile granules, entails a complete unstaining of the parasites, which can then not be seen. A systematic search or a search for negative conclusions must never be tried by this method. Of course now and then a satisfactory stain is obtained of the parasite (cf. Fig. 34, Plate 51) by this method.

A comparative study of the material leads us to interpret the process of encephalo-myelitis by *Schizotrypanum* in the following way.

Figure 33, Plate 51 seems to show the first stage in the invasion of the nervous system by *Schizotrypanum cruzi* and throws light on the pathogeny of the process. It is, as a matter of fact,

with the morphology of a leishmaniform body and so to say passively that *Schizotrypanum* is carried to the nervous tissue itself. Of great importance in this spreading of the germ or this infection of the nervous centres, are the cells of the adventitia of the capillaries and praecapillaries or perhaps some special neuroglia cell (perivascular neuroglia of HELD). It is probable that *Schizotrypanum* pierces actively the walls of capillaries within the brain, which may be already more permeable by some peculiar conditions of structure, and is then taken up by some adventitial, neuroglial or connective-tissue cell, which may next remove itself from the vessel and emigrate in the nervous substance (see Figs. 33, 34 and 35, Plate 51).

These cells embodying the parasite in their cytoplasm become a centre of attraction for other cells, which arise, some from neighbouring vessels, which would explain the close connection between the foci and vessels infiltrated, others from the nervous substance itself (amoeboid neuroglia cells and microglia evolving towards fatty-granular cells). In this manner foci are built up in the nervous tissue itself. Disintegration of the nervous substance, formation of fatty-granular cells derived from those two orders of cells, their posterior dispersal, and cicatricial fibrosis are successive stages in a general process well known in pathology and which does not require reference here.

It would seem opportune to remember here an ingenious supposition of PINFIELD's (1) which will explain how the parasite after entering into acttve proliferation in the cytoplasm of the macrophages of the foci, and after acquiring flagella, would return to the circulation.

(1) «Microglia cells seem to transport the ingested substances to the outer surface of blood vessells where they lose their granular and vacuolar appearance, decrease in size, and finally leave the vicinity of the vessel in characteristic form for renewed phagocytosis. The inference is made that the digested contents of these cells pass into the vessel lumen or into the perivascular space».

CONCLUSIONS

1.—In 39 adult dogs inoculated with *Schizotrypanum cruzi* (strain isolated from *Tatus novencinctus* L. and exalted in virulence through successive animal inoculation) a process of encephalo-myelitis was seen, revealed clinically by astasia, paralyses, convulsions and other nervous disturbances.

2.—The process shows great regularity in its term of evolution, clinical symptoms and histo-pathologic lesions.

3.—As canine distemper also displays a paralytic form, great care was taken to ascertain whether there was any associated infection by canine distemper and *Schizotrypanum*. In the experimental field (see Fig. 9) in which the dogs were kept in individual kennels, no paralyses were ever seen in dogs not inoculated with *Schizotrypanum*, although kept under the same circunstances of food, lodging and exposure to the different epizootics as inoculated animals. The virus of distemper in paralysed dogs was not to be demonstrated either by inoculation to sensitive animals (puppies of a few days of age and rabbits) of material from the nervous system, of blood passed through BERKEFELD filters, or by direct rubbing of nasal mucus of the paralysed dogs on the nose and mouth of sensitive animals. Lastly histo-pathologic lesions of distemper were not seen in paralysed animals.

4.—Encephalo-myelitis in paralytic

dogs inoculated with *Schizotrypanum* is made up of small foci, found always in the neighbourhood of capillaries and prae-capillary vessels within the brain and occurring indifferently in white and grey matter of the brain (cortex, AMMON's horn) and of the spinal cord (in all segments) without any evident systematisation or preference.

In the cerebellum foci are more rarely found, but here also no preference is shown for the different strata.

The foci are made up of macrophages, some evidently migrated from the vessels (endothelial leucocytes), others, in greater number, arising probably from the microglia of the region (microglial macrophages). The desintegration of nervous substance, the formation of many fatty-granular cells, their subsequent dispersal and consecutive cicatricial fibrosis, are successive stages in the evolution of the foci.

Schizotrypanum cruzi with the appearance of a leishmania (leishmaniform body) is often found in the cytoplasm of the cells in the foci.

5.—The vessels of the nervous substance show an infiltration of adventitia and lymphatic sheath by macrophages, lymphocytes and plasma-cells. This infiltration is discontinuous and is seen in the neighbourhood of foci of encephalo-myelitis. It does not show the uniformity of distribution seen in other affections (General Paralysis, Spleeping sickness, Encephalitis Epidemica). In some places, the infiltration, more extensive, is evidently perivascular. In the small arteries and praecapillary vessels, mostly inside or near a focus of encephalo-myelitis, there is to be seen a proliferation of the endothelial cells with partial or total obliteration of the lumen of the vessel.

6.—The plasma-cells are a constant element of the inflammatory exudate of the meningo-encephalo-myelitis caused by *Schizotrypanum cruzi*. They are never the dominant type of cell as in Sleeping Sickness according to SPIELMEYER.

7.—Lesions of the nervous cell are present but not conspicuous. The most affected cells are the PURKINJE's cells of the cerebellum and the lesions are swelling of the cellular body, perinuclear chromatolysis and necrosis.

Other cells constantly affected are the large pyramidal cells of the cortex, which often show, besides the above-mentioned lesions, «neuronophagism».

The multipolar cells of the spinal cord are less often affected. In some cases we were able to see these cells located in the immediate neighbourhood or even within the focus of myelitis itself and in a perfectly normal condition as regards their NISSL's bodies.

8.—Dura-mater is normal. The leptomeninges show a discontinuous inflammation. The inflammatory exudate, which is not abundant, is of mononuclear nature, made up of macrophages, which are prevalent, and of lymphocytes and plasma-cells. Often leptomeningitis is of a haemorrhagic type, specially round the cerebellum. The vessels of the leptomeninges show along great extensions infiltration by macrophages and plasma-cells.

9.—*Schizotrypanum cruzi* with its

trypanosome shape, as it is found in the blood, once passing through the adventitia of vessels, is embodied by or penetrates actively into cells surrounding the vessels (perivascular microglia ? adventitia cells ?).

These cells, acting as macrophages, disseminate the germ throughout the nervous system. One might say, in a general way that the *Schizotrypanum* usually penetrates in the nervous tissue passively.

10.—Special methods used permit us to assert that the cells which usually contain *Schizotrypanum* in the nervous central system are macrophages. These cells do not stain by the specific methods, method IV of ALZHEIMER and sublimate-gold of CAJAL.

The morphologic characters and known histologic methods are not able to make clear the precise origin of these macrophages, for it is a well-known fact that they may have a multiple origin. The evolution of these cells into fatty-granular cells, which is a constant phenomenon in the experimental paralysis studied, indicates that these macrophages arise mostly from the microglia. They are thus «microglial macrophages». Vascular lesions indicate however, that endothelial leucocytes also concur towards the formation of the macrophages. Besides the macrophages and fatty granular cells, ALZHEIMER's method IV shows that the parasite is also embodied by cells of the protoplasmic neuroglia (cf. Fig. 27, Plate 50).

11. Presumption was obtained that the return to the circulation of the *Schizotrypanum* found in the foci of encephalo-myelitis is in part at least, associated with the migration of neuroglia cells to the outer surface of blood vessels.

EXPLANATION OF PLATES 38—51.

Figs. 1 to 17, Plates 38 to 47 are photographs.

Fig. 1. Inoc. Dog 62.—Astasia and dysbasia. Cerebellar titubation with a tendency to circular movement and to falling towards the left. Paresis of the 4 limbs.

Fig. 2. Inoc. Dog 29.—Onset of a convulsive attack (tonic convulsion).

Fig. 3. Inoc. Dog 26.—Paralysis of the 4 limbs. Onset of a convulsive attack (tonic period).

Fig. 4. Inoc. Dog 44.—Paresis of the hind limbs, especially of the left, which is trailed behind in walking. Titubation (staggering).

Fig. 5. Inoc. Dog 158.—Paresis of fore-limbs.

Fig. 6. Inoc. Dog 158.—Keratitis with ulceration.

Fig. 7. Inoc. Dog 25.—Astasia and paralysis of the 4 limbs.

Fig. 8. Inoc. Dog 27.—Complete paralysis of the 4 limbs. Ulceration at buttocks.

Fig. 9.—Kennel in which experiments were made.

Fig. 10. Inoc. Dog 178.—Section of spinal cord showing the multiple nature of inflammatory foci (nine different foci are to be counted).

Fig. 11. Dog n. 23.—Section of spinal cord (anterior horn, outskirts of the white matter). Confluent foci giving the impression of a diffuse infiltration. Perivascular infiltration and infiltration of the lymph-spaces of the local vessels.

Fig. 12. Inoc. Dog 23.—Part of the preceding section seen under higher magnification. Foci are made up principally of fatty-granular cells and macrophages.

Fig. 13. Inoc. Dog 178.—Section of spinal cord. Three inflammatory foci and perivascular infiltration with infiltration of lymph-sheaths of blood- vessels are to be seen. Some normal-looking cells are seen.

Fig. 14. Inoc. Dog 158.—Section of spinal cord. Proliferation of the endothelium and obliteration of the lumen of a vessel in the neighbourhood of a focus of inflammation of the spinal cord.

Figs. 15 and 16. Inoc. Dog 24.—*Section of brain. CAJAL's neuroglia-stain (sublimate-gold).* Proliferation of neuroglia round the foci of encephalitis.

Fig. 17. Inoc. Dog *Section of spinal cord. NISSL's stain using UNNA's polychromatic blue.* Great numbers of plasma-cells in the perivascular exsudate and in a focus of inflammation of the spinal cord.

Fig. 18. Inoc. Dog 158.— *Section of spinal cord. Scharlachrot-haematoxylin.*
Oc. 5, obj. AA at height of table.
Confluence of different foci showing infiltration of the lymph-sheaths of blood-vessels and round them. Fatty-granular cells outlining the edges of each of the confluent foci («diffusion» of fatty-granular cells).

Fig. 19. Inoc. Dog 158.—*Oc. 4. Imm. lens 1/12».*
Fatty-granular cells seen under high magnification (same section of Fig. 18.)

Fig. 20. Inoc. Dog. 178.—*Oc. 1. Imm. lens 1/12. Height of table. Section of spinal cord. PAP-*

PENHEIM—UNNA method.
Focus of inflammation in the spinal cord, high magnification, showing the predominant fatty-granular cells. Plasma-cells are seen with their specific stain. There is a proliferation of endothelium in the field, with partial obliteration of the lumen of a blood-vessel.

Fig. 21. Inoc. Dog 178.—*Section of spinal cord. PAPPENHEIM—UNNA's method. Oc. 1. Obj. S. S. At height of table.*
Small blood-vessel with obliteration of its lumen and infiltration of the lymphatic-sheath by plasma-cells.

Fig. 22. Inoc. Dog 158.—*Section of brain.* Limited leptomeningitis showing plasma-cells in the inflammatory exsudate. Oc. O. Imm.—lens 1/12 at height of table. PAPPENHEIM-UNNA's method.

Fig. 23. Inoc. 158.—*Oc. 2, Imm.-lens 1/12 Height of table. PAPPENHEIM—UNNA's stain.*
Infiltration by plasma-cells along the connective-tissue septa which run in from the leptomeninges and hold the blood-vessels. Section of spinal cord.

Fig. 24. Inoc. Dog 158.—*Section of spinal cord. ALZHEIMER's neuroglia method IV.*
Proliferation of cells of the protoplasmic neuroglia at the limits of a focus of myelitis.

Fig. 25.—*Part of the same focus, further inside, seen with high maginification. (Oc. O, Imm.-lens 1/12, at height of table). Oc. 2, Imm.-lens 1/12. At height of table.*
Cells of the protoplasmic neuroglia with lesions. Between them, fatty-granular cells.

Fig. 26. Cell of the amoeboid neuroglia seen at the edge of a focus of inflammation in the spinal cord. Same focus as in fig. 25.
Oc. 2, Imm.-lens 1/12. At height of table.

Fig. 27. Inoc. Dog 149.—*Section of spinal cord.*
Oc. O, Imm.-lens 1/12. Drawn at height of table. ALZHEIMER's method IV.
Cell of the protoplasmic neuroglia containing *Schizotrypanum cruzi* as a leishmaniform body. In the neighbourhood a capillary vessel.

Fig. 28. Inoc. Dog 23.—Oc. O, Imm.-lens 1/12, at height of table. PAPPENHEIM—UNNA's method.
Macrophages found in foci of encephalo-myelitis are the cells in which *Schizotrypanum* is most often found (microglial macrophages ?—endothelial leucocytes ?).

Fig. 29. Inoc. Dog 149.— *Section of cerebellum. Oc. O, Imm.-lens 1/12. At height of the microscope table. NISSL's method with UNNA's blue.*
PURKINJE's cell with chromatolysis in the neighbourhood of a focus. The focus is made up mostly of macrophages.

Fig. 30. Inoc. Dog 158.—*Section of cerebrum. Oc. O, Imm.-lens 1/12. At height of table. NISSL's method with UNNA's blue.* Lesions of NISSL in the cells of the cortex of the brain.

Fig. 31. Inoc. Dog 11.—*Section of cerebellum. Oc. 1, Obj. DD. At height of table. Haem.*

eosin method. Lesions of PURKINJE's cells.

Fig. 32. Inoc. Dog 23.—*Oc. O, Imm.-lens 1/12. UNNA—PAPPENHEIM's method.* Multipolar cells of the anterior horn of the spinal cord with chromatolysis and nuclear lesions.

Fig. 33. Inoc. Dog 152.—*Section of cerebellum. Oc. O, Imm.-lens 1/12. At height of table. NISSL's method using UNNA's blue.* Cell in the adventitia of a capillary vessel containing *Schizotrypanum cruzi* with the morphology of a leishmaniform body.

Fig. 34. Inoc. Dog 152.—*Section of cerebellum. Comp. oc. 6, Imm.-lens 1/12, at height of table.* NISSL's method using UNNA's blue. Cells arising from the adventitia of a capillary vessel and containing *Schizotrypanum cruzi.* These cells are not to bé distinguished morphologically from endothelial leucocytes. The figure shows the probable mode of dissemination of the parasite in the central nervous system.

Fig. 35. Inoc. Dog 23.—*Section of brain. Oc. 2, Obj. 1/12, at height of table.* Haematoxylin-eosin method. Parasites in the cells of the wall of a capillary vessel.

Fig. 36. Inoc. Dog 23.—*Section of brain (AMMON's horn). Oc. O, Imm.-lens 1/12, at height of table of microscope. Haematoxylin-eosin.* A zone in a large inflammatory focus in the brain showing numerous cells containing *Schizotrypanum cruzi.*

Bibliography

CHAGAS, C. 1909—Nova trypanosomiase humana. Estudos sobre a morphologia e o ciclo evolutivo do *Schizo trypanum Cruzi*. n. gen. n. sp., ajente etio logico de nova entidade morbida do homem. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1909. T. I, fasc 2, p. 59.

CROWELL, B. C. 1923 The Acute Form of American Trypanosomiasis: Notes On Its Pathology with Autopsy Report and Observations on Trypanosomiasis Cruzi in Animals. Amer. Jour. Trop. Med. 1923, III, 425—454.

MAGARINOS TORRES C, e VILLAÇA, J. 1918—Encefalite e mielite causadas por um tripanosomo *(T. Cruzi)*. (Nota previa). Brazil Medico 1918, Ann. 32, n. 51, p. 401.

MAGARINOS TORRES, C. e VILLAÇA, J. 1919—Encefalite e mielite causadas por um tripanosomo *(T. Cruzi)*. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 1919 IX, fasc. 1, p. 80—89.

METZ., A. u. SPATZ., H. 1924—Die Hortegaschen Zellen (=das sog. "dritte Element") u. ü. ihre funktionelle Bedeutung. Zeitschr. f. d. ges. Neur. u. Psych., 1924, v. XXXIX, s. 138—170.

SPIELMEYER, W. 1908—Die Trypanosomenkrankheiten und ihre Beziehungen zu den syphilogenen Nervenkrankheiten. 1908. Fischer. Jena.

PENFIELD, W. 1925—Microglia and the Process of phagocytosis in Glioma. Amer. Jour. of. Path., 1925, v. I, p. 77.

RIO HORTEGA, P. del. 1920—La microglia y su transformacion en cellulas en bastoncito y cuerpos granulo-adiposos. Trab. Lab. Inv. Biol. Madrid, 1920, XVIII, p. 37—83.

SOUZA CAMPOS, C. 1924—Sur la paraplégie des animaux infectés expérimentalement par le *Trypanosoma cruzi* (CHAGAS, 1909). C. R. Soc. Biol. 1924, T. 91, n. 30, p. 984.

SOUZA CAMPOS, C. 1925—Sur la paralysie des animaux (chiens., souris) infectés expérimentalement avec des cultures de *Trypanosoma cruzi*. C. R. Soc. Biol. 1925 T. 93, n. 20, p. 40.

VILLELA, E. 1923—A transmissão intra-uterina da molestia de CHAGAS. Encephalite congenita pelo *Trypanosoma cruzi*. Folha Medica. 1923, Anno 4, p. 41.

VILLELA, E. 1924—Paralysie experimentale chez de chien pur le *Trypanosoma cruzi*. C. R. Soc. Biol. 1924, T. 91, n. 30, p. 979.

VILLELA, E. 1925—Variação do poder pathogenico do *Trypanosoma cruzi* (raça neurotropica). Sciencia Medica. 1925, Anno 3, n. 2, p. 147.

VILLELA, E. e MAGARINOS TORRES, C. 1925 – Lésions histopathologiques dans la paralysie expérimentale à *Schizotrypanum cruzi* chez le chien. Nature des cellules contenant le parasite dans le systéme nerveux central. C. R. Soc. Biol., 1925, T. 93, n. 21, p. 133.

VIANNA, G. 1911—Contribuição para o estudo da anatomia patolojica da "Molestia de CARLOS CHAGAS" (esquizotripanoze humana ou tireoidite parazitaria). Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1911, T. III fasc. 2, p. 275—294.

Peste dos "Polmões"

pelo

DR. OCTAVIO MAGALHÃES

(Com as estampas 52—55.).

E' esta, sem duvida, um dos mais interessantes problemas da pathologia animal, em nosso Paiz.

Em 1919, Novembro, (1) escrevemos a la. nota sobre o asssumpto.

Vinhamos de apreciar uma panzootia. Nossa opinião, sobre a doença, modificara-se. Vimos deante de nós—todo um largo capitulo—inexplorado—da Pathologia, e a doença, que a principio parecia sem importancia, limitada, desdobrou-se como um complexo morbido dos mais vastos e graves para o Brasil.

Em 1913 (2) publicamos a 2a. Nota.

Finalmente no mesmo anno veio a lume o trabalho completo sobre o assumpto (3). Via-se, todavia, que não era definitivo. A nota final era a prova. Depois das 2 primeiras notas, appareceu a communicação do eminente experimentador brasileiro Henrique Marques Lisboa. (4).

Elle confirmou nossas pesquizas com experiencias decisivas.

Desde a 1a. Nota, tinhamos dito que a «Peste dos Polmões» era uma das manifestações (a cutanea) de uma doença muito mais vasta no seu complexo clinico.

As diarrhéas, cursos ou, como se costuma chamar, a «Pneumoenterite» dos bezerros era uma fórma (a intestinal) da doença, como a «Peste de seccar» - a forma toxica, afóra as formas aguda e anomalas.

Tudo isso provamos e reprovamos em transformações successivas no laboratorio e observando nos campos.

(1) Brasil Medico—21 Fevereiro 1920, pg. 153.

(2) Brasil Medico—V. 1, n. 1, pg. 6, n. 37, 1923.

(3) Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, 1923, V. XVI, n. 1, pg. 71.

(4) Brasil Medico 7 de Outubro, 1922, n. 40. Anno XXTVI, V. II, p. 203.

Mostramos que a causa unica do mal era um «virus filtravel» associado a variados e numerosos microbios consoante a região, a modalidade morbida, e até os individuos.

Nossa observação e experiencia, hoje ainda mais vastas, confirmaram tudo isso, e juntaram ainda a verificação de factos novos, já previstos todavia, nos anteriores trabalhos.

Primeiro quanto aos germes; segundo quanto ás lesões.

Germes:

No artigo final, nas Memorias do Instituto Oswaldo Cruz (ob. ccit.) não nos detivemos muito nos germes encontrados na doença, e já muito conhecidos (o b. pyocyanico, os coccos pyogenicos etc.).

Pormenorizamos os julgados «novos» ou de grande importancia no mal.

Falamos assim em 16 microbios, sem contar todo o grupo coli-typhico. E' sabido que neste caso, teriamos os baccillos «coli-commune», typhico, paratyphico, principalmente B, e o enterites de GARTNER. Já foram assignalados tambem o Proteus, Micrococcos, «Abortos bacillus» e Diplococcos.

Este anno insulamos, pela 1a. vez um Pnemococcos do sangue de um bezerro com a Pneumoenterite classica.

Seriam, desse modo uns 24 microbios diversos, sem contar as «raças», não raro de **subtis** differenças.

Nada adeantaria á nossa exposição.

E' preciso assignalar, todavia, não ser possivel (numeroas vezes nos succedeu isso) insular microbio algum *vesivel* do sangue, em varias e numeroas e vastas sementeira, aerobias ou anaerobias, em meios de todos o feitios.

No artigo das «Memorias» procuramos salientar o facto de não se poder attribuir papel etiologico numa molestia á determinado microbio, retirado dos organismos, exclusivamente pelo seu papel pathogenico.

O b. de Vryburg está, até certo ponto, neste ccaso. Dizemos até certo ponto, porque lhe fallece a propria virulencia. Tinhamos aliás, em Pathologia, já exemplo, que deve ser um espelho para os que trabalham, no Hog-cholera. Não basta que um microbio seja pathogenico, que provoque uma doença.

E' preciso que a pathogenicidade seja especifica, reproduza *a doença.*

Entre os microbios asignalados, em nosso trabalho está o Diplococco polmonis», vari. «b«.

Este sim tem até poder pathogenico alto para todos os animaes ensaiados, inclusive bovideos. E' um «*associado*» de valor na formação do complexo clinico, particularmente de uma das formas sobre a qual a doença se apresenta.

O seu papel importante na doença já foi demonstrado no nosso citado artigo (M. Inst. O. C. Rio.).

Aqui está mais uma prova, na microphotographia junto, do pulmão de um caso mixto de «Peste dos Polmões» (Enterite e «Polmões»).

E' uma pneumonia pelo «Diplococcos B», que se encontra puro, em quantidade formidavel, no tecido pulmonar.

Lesões:

Na 2a. nota prévia e no trabalho das «Memorias» referimo-nos ao chamados «Polmões internos», que podem ser: *cavitarios* ou *parenchymatozos*. Já registramos neste segundo grupo-os-a) pulmonar; b) osseo; c) muscular. Naquelles — o 1) abdominal e 2) articular.

Juntamos hoje mais uma outra verificação-o «Polmão hepatico».

Aliás, no artigo das «Memorias», extranhamos que a septicemia e os abcessos internos não fosem muito frequentes na doença. A ganga do tecido conjunctivo, que barra os «Polmões», explica o facto.

Tratava-se de um novo caso, a principio, typico de Pneumoenterite, num bezerro vindo da zona Oeste de Minas, aonde este anno, a doença devastou os bovideos.

Por fim appareceram os «Polmões».

Não eram numerosos. Ganhavam, porém, em vastidão o que perdiam em numero. Solapavam regiões vastas da pelle. Esta falta de barreiras explica a septicemia. Havia «Polmões» articulares, que impossibilitavam a marcha e até a posição erecta.

A necropsia revelou além das lesões communs na Pneumo-enterite-Polmões typicos, e artrites purulentas (a articulação do corvejão estava reduzida a uma massa purulenta) com osteite necrosante, já descripta (artigo das M. Inst. O. C. Rio.).

Era uma forma mixta.

O que é interessante: o Figado estava crivado de abcessos, de tamanhos varios, de aspecto caseoso. Lembravam os provocados pelos B. de Koch.

Os exames directos e culturas do pús, como já havia acontecido com o da pelle e articulações, revelaram a presença de quantidade enorme do «Diplococcus polmonis», vari. «b", e ausencia de bacillos acido resistentes. Aos cortes histologicos por varios processos (dupla, triplice coloração e Mac-Callum) vimos o Figado inteiramente congesto (já descripto no artigo das Memorias) e crivado de abcessos, verdadeiros «Polmões» no periodo de caseificação. A invazão do Figado foi sanguinea, explicavel aliás porque a «Polmões» cutaneos já não tinham, no caso, barreiras.

Os «Polmões hepaticos eram constituidos por uma zona central de caseificação de estructura amorpha, indistincta ou ligeiramente granulosa; outra peripherica, em torno da 1a., de leucocytos principalmente polymorpho-nucleares de permeio a cellulas hepaticas mais ou menos degeneradas.

Em torno-3a.-zona-uma ganga de tecido conjunctivo néo-formado, infiltrado de leucocytos, barrando o processo. Em torno desta o tecido hepatico-congeto, infiltrado, (de leucocytos e tecido conjunctivo) degenerado. A's vezes, em certas zonas, tão numerozas eram os abcessos, que se tocavam pela ganga fibrosa sem ccomtudo se fundirem.

Nos cortes histologicos, como no esfregaço deste puz só se viam os «Diplococcus pulmonis, var. b», em tal quantidade que obscureciam os campos de visada.

Não raro nos cortes, a massa de pus se esboroa, e permanece hiante a caverna com uma fina cercadura de pus e as demais camadas.

Não se percebem reacções de tecido que lembrem tuberculos.

Os vasos sanguineos do Figado, particurlamente nas proximidades da zona de abcessos, ficam cheias do «Diplococcos».

EXPLICAÇÃO DAS MICRO-PHOTOGRAPHIAS:

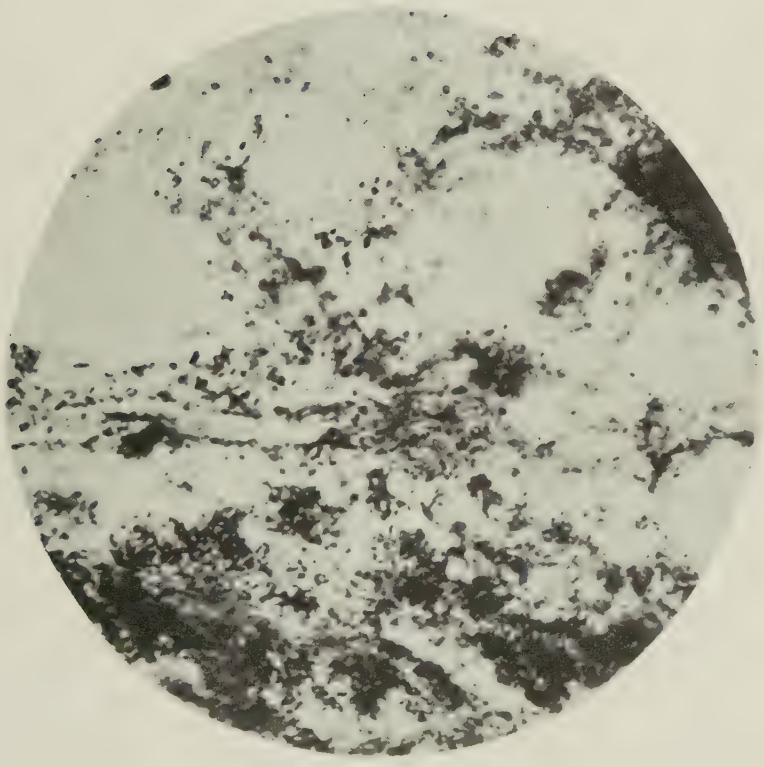
n. 1) Corte de pulmão (Mac. Callum). Bezerro. Pneumonia Forma, chronica, cutanea. «Diplococcus polmonis», var. «b.» Ocular 4, Object. A.

n. 2) Mesmo corte. Ocular 4; Obj. 1/12 immersão. Ve-se, com nitidez, a quantidade e as formas do Diplococcus.

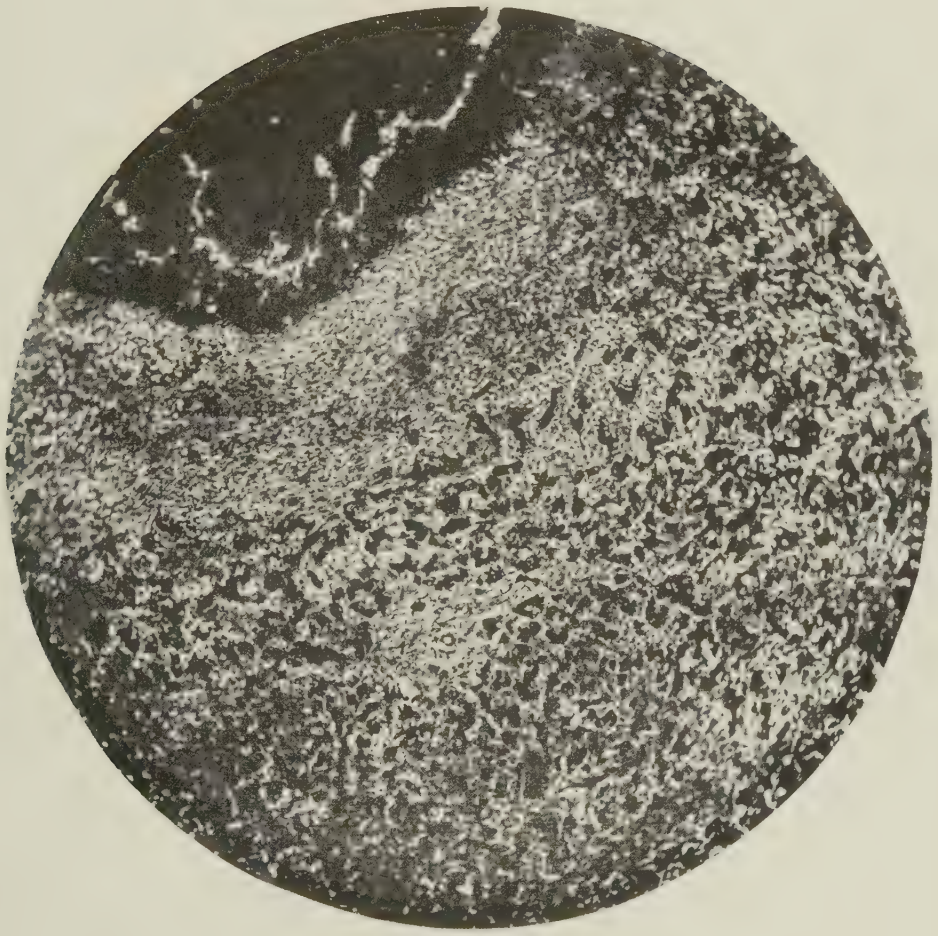
n. 3) Abcesso hepatico. Forma mixta (Intestinal, Cutanea e articular.).

n. 4) Abcesso hepatico. Forma mixta (Intestinal, Cutanea e articular.). Outro aspecto.

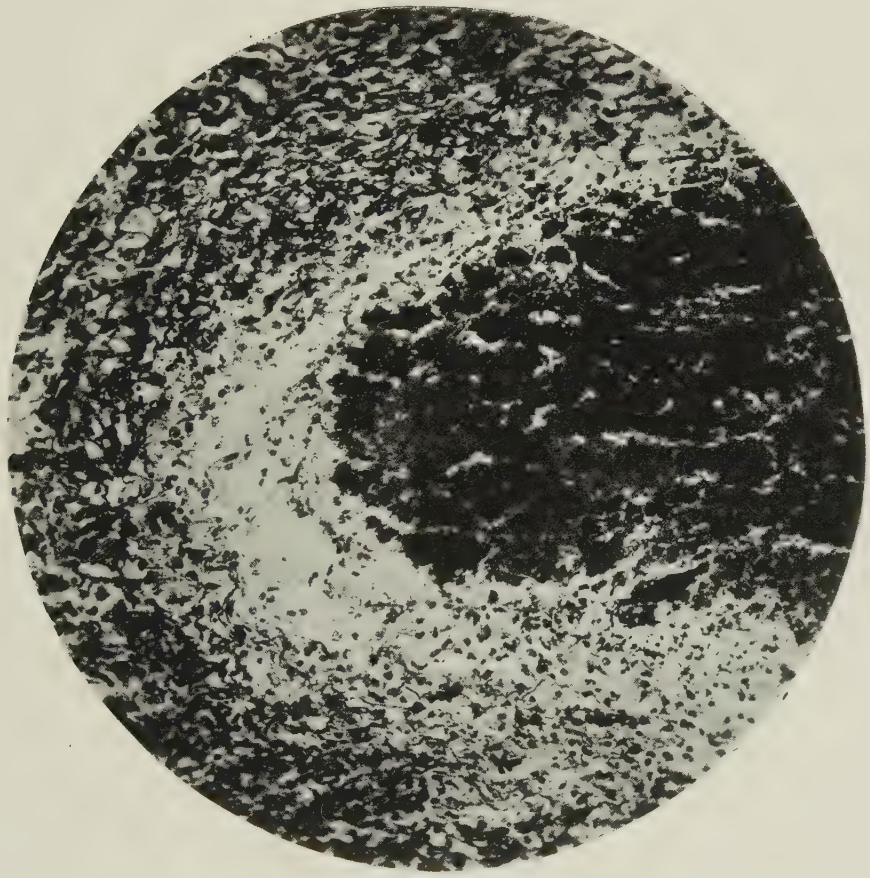
1



2



3



4

Peste dos "Polmões"

by

DR. OCTAVIO MAGALHÃES

(With Plates 52—55.).

This is undoubtedly one of the most interesting problems of animal pathology in this country.

In 1919, in November, I wrote my first note on the subject (1).

I had just seen a panzootic. My opinion had undergone a change. I saw before me a whole chapter of pathology, as yet unexplored, in which the disease, which had seemed unimportant, limited, developed into a disease-complex of the most widespread and severe for the Country.

In 1923 I published my 2nd. note (2).

Finally in the same year there appeared the complete work on the subject (3). It could be seen, however, that it was not final. The last note proved this. After the two first ones there appeared the communication of the eminent research-worker HENRIQUE MARQUES LISBOA (4).

He confirmed our research with definite experiments.

Right from the outset we had said that «peste dos polmões» was one of the expressions (the cutaneous) of a disease very much more complex in its clinical features.

The diarrhea, or as it is usually called, the pneumoenteritis of calves was a form (the intestinal) of the disease, just as the «Peste de Seccar» (Shriveling-Disease) was the toxic form, besides the acute and aberrant forms which also belong to the disease.

All this was proved and controlled by me in successive transformations in the laboratory and by observations in the field. I showed that the only cause of the disease was a filterable virus associated with varions and numerous

(1) Brasil Medico, Feb. 21, 1920, p. 123.

(2) Brasil Medico, V. I, n. 1, p. 6 n. 37; 1923.

(3) Memorias do Instituto Oswaldo Crnz, 1923; V. XVI, n. 71, p. 71.

(4) Brasil Medico, Oct. 7, 1922, n. 40, Year XXXVI Vol. II, p. 203.

bacteria according to the region, the form of the disease and even to the individual animals.

My observation and experience, today more extensive, has confirmed all this and has added new facts, which however were already foreseen in the earlier papers. Firstly, as to the agents; secondly, as to the lesions.

Agents.

In the final article, in the MEMORIAS DO INSTITUTO OSWALDO CRUZ (op. cit.). I did not go into details as regards the bacteria found in the disease and in other respects very well known *(B. pyocyaneus,* pus-cocci etc.).

A detailed description was given of those thought to be new or of importance in the disease.

Thus 16 microorganisms were spoken of, without mentioning the group of the coli and typhoid bacilli. Of course in this case I should have had to take into consideration *B. coli communis, B. typhosus,* the *paratyphoid bacilli,* especially *paratyphoid B, B. enteritidis* GAERTNER. The following were also pointed out: *B. proteus, Micrococci, B. abortus,* and diplococci.

This year I isolated for the first time a *Pneumococcus* from the blood of a calf with the classic *Pneumoenteritis.*

Thus there would be 24 different microorganisms, without counting strains, which often show subtle differences.

This would not help the exposition of the work.

It must be pointed out, however, that it is not possible (as I had opportunity enough of certifying myself) to isolate any *visible* micro-organism from the blood, in spite of a great number of inoculations on the most varied aerobic and anaerobic culture-media.

In the paper in the *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz,* I attempted to make clear that an etiologic importance could not be attributed to any micro-organism isolated from cases of the disease, just because of its showing some virulence.

VRIBURG's bacillus is, to a certain extent, illustrative of this fact. I say, to a certain extent, because even in virulence it is deficient. In the pathology of the known diseases there was already a striking instance of this in the case of Hog-Cholera. It is not enough that a micro-organism should be pathogenic, that it should cause some-disease. Pathogenicity must be specific, it must reproduce *the disease.*

Among the micro-organisms pointed out in my paper is *Diplococcus polmonis* var. *b.*

This organism does indeed possess a high degree of pathogenicity for all the animals tested, including cattle. It is an «associated» germ of great importance in the clinical complex, specially in one of the forms of the disease.

Its importance in the disease has already been shown in the article quoted *(Memorias do Instituto Oswaldo Cruz).*

Here is yet another proof, in the accompanying microphotography, of the lung of a mixed case of *«Peste dos polmões» (Enteritis* and *«Polmões").*

It is pneumonia in which *Diplococcus B* is found pure, in enormous numbers, in the lung-tissue.

LESIONS.

In the second preliminary note and in the paper in the memorias I mentioned the so-called «Internal Polmões» (inflammatory foci or abscesses) which could be: *in cavities* or *parenchymatous.* In the second group I had already shown locations in a) lungs; b) bones; c) muscles. In the former a) abdominal and b) articular localisations.

I may add yet another observation, the «liver-polmão».

Already in the Memorias I had remarked that it was surprising that internal abscesse should not be more frequent in the disease. The connective tissue which envelops the polmões (abscesses) would explain this fact.

The case was a recent one, at first a typical case of *pneumoenteritis,* in a calf coming from the West of *Minas Geraes,* where the disease had been very prevalent.

The cutaneous abscesses were the last to appear.

They were not numerous but made up in extension for their scarcity. They undermined great tracts of skin. The lack of barriers to limit them would explain the septicaemia. There were foci in the articulations which prevented locomotion and made even standing impossible.

Necropsy showed, besides the usual lesions of Pneumo-enteritis, typical polmões (cutaneous abscesses) and a purulent arthritis (the articulation was reduced to a purulent mass) with necrotic osteitis, as has been already described (paper in the Memorias do Instituto Oswaldo Cruz).

It was a mixed form.

What is most interesting is that the liver was honey-combed with abscesses of varied size and with a caseous appearance. They reminded one of tuberculous caseous foci.

Direct examination as well as cultures from the pus, showed, as in the case of skin and joints, enormous quantities of *Diplococcus polmonis* var. *b,* and the absence of acid-fast bacilli. In histologic sections (double and treble staining and Mac Callum process) the liver was seen very congested (as described in the article of the *Memorias)* and honey-combed with abscesses, real «*Polmões*» at the stage of caseification. The invasion of the liver was from the blood which is explicable, considering the skin abscesses had no connective tissue barriers.

The «*Polmões*» in the liver, were made up of a central zone of caseification, amorphous, indistinct or slightly granular; and a peripheric part, round the former, made up chiefly of polymorphonuclears with more or less degenerate liver-cells.

A the periphery a third zone, a barrier of fresh connective tissue infiltrated with leucocytes around this the liver tissue, congested, infiltrated (with leucocytes and connective tissue) and degenerated. In some places the abscesses were so plentiful that their connective-tissue envelopes touched but did not mingle.

In histologic sections, as in smears form this pus, only *Diplococcus polmonis* var. *b* were to be seen, but so plentifully that they took up the whole field.

Not infrequently in the sections the mass of pus drops to pieces so that there remains a gaping cavity surrounded by a fine ring of pus and by the other zones.

These are no reactive process resembling tubercles.

Blood-vessels of the liver, especially near the abscesses are full of *Diplococci.*

EXPLANATION OF MICRO-PHOTOGRAPHS:

1. Section of Lung (Mac Callum). Calf. Pneumonia. Chronic form, cutaneous. «*Diplococcus polmonis*», var. *b*. Ocular 4, Objective A.
2. Same section. Ocular 4; Obj. 1/12, immersion. The numbers and forms of diplococci are clearly seen.
3. Liver-abscess. Mixed form (Intestinal, cutaneous and articular).
4. Liver-abscess. Mixed form (Intestinal, cutaneous and articular). Another appearance.

Schmardaella lutzi Mich., oligochaeto endoparasitico de Hylidas sul-americanas

pelo professor

W. MICHAELSEN (Hamburgo)

(Com 1 photogravura no texto).

Ha pouco recebi do Dr. LUTZ, descobridor do interessante *Oligochaeto,* observado em Hylas sul-americanas, novo material que me permitte ampliar a primeira descripção e rectifical-a em alguns pontos. Havia n'elle o apparelho urogenital direito de uma femea de *Hyla rubra,* obtida em Bello Horizonte. No desenho junto vê-se o canal de WOLF nascendo do rim e terminando na cloaca, com volume bastante dilatado e quasi inteiramente repleto de vermes parasitarios. Aberto mostrava 8 ou 9 exemplares. Do lado esquerdo havia apenas um fragmento com tres vermiculos adherentes; mais quatro foram mandados soltos completando o numero de 7 para o lado direito e de 15 ou 16 para todo o apparelho urogenital.

A conservação, posto que melhor do que no material original, ainda não permittiu a verificação de todos os detalhes de estructura, mesmo nos vermes isolados.

Nota-se todavia o facto importante que nenhum dos 15 vermes apresenta a extremidade cephalica normal.

Uma parte mostra um segmento medio apparentemente normal do qual se destaca distinctamente a extremidade cephalica em via de regeneração. E' mais fina que a parte media e a sua segmentação é menos perfeita, mas mostra o lobo cephalico já bem caracterisado. Apenas em um dos segmentos cephalicos regenerados, a segmentação, caracterisada pelas cerdas, era bastante adiantada para permittir a determinação do numero dos segmentos cephalicos regenerados. Fóra do lobo cephalico havia 5 segmentos, dos quaes 4 com cerdas. Em outros casos as partes cephalicas indicavam uma regeneração recente e imperfeita e outros vermes mostravam

um coto de regeneração pequeno e ainda não segmentado.

Quanto á forma da extremidade posterior, o maior numero dos exemplares novos não differe dos velhos originaes, porém no segmento anal destacado e livre de cerdas (1) é excepção rara de se notar espessura maior que o do segmento do corpo que é carregado de cerdas.

Tambem a quantidade de sangue apparentemente maior do segmento anal é apenas um phenomeno occasional, consecutivo á uma contracção especial no momento da fixação. Esta pode impellir o sangue para o fragmento posterior como se verifica para outras partes do corpo e, ás vezes, para a extremidade cephalica, devido a contracções differentes. Assim a minha supposição anterior que esta riqueza em sangue caracterise o fragmento anal sem cerdas como branchio, comparavel ao branchio tubular do tubificideo *Aulodrilus*, perde o seu apoio principal e tem de ser abandonada em favor de outra. Julgo agora que estes segmentos anaes destacados e geralmente livres de chaetas (1) representam partes regeneradas na extremidade posterior do fragmento correspondendo ao acima exposto em relação á regeneração da extremidade cephalica na parte anterior do fragmento.

Parece aqui haver analogia com o processo já conhecido do lumbricideo *Lumbriculus variegatus* (MUELL.): divisão do individuo em fragmentos irregulares nos sulcos intersegmentaes, seguida de regeneração numa das extremidades (anterior ou posterior) ou nas duas. E' uma multiplicação por regeneração depois de uma fragmentação irregular e repentina. Não pode ser equiparada á divisão normal depois da formação de zonas gemmiparas, caracteristica para os *Naidineos*. Estas zonas nunca foram observadas na *Schmardaella*, nem mesmo num individuo de 60 segmentos, medindo perto de 7,5 mm. desde da extremidade cephalica normal até ao começo da extremidade posterior em regeneração.

Não podendo pois ser justificada a inclusão da *Schmardaella* na serie de familias formando os «*Naidina*», poderá ser collocada provisoriamente na dos «*Tubificina*» e na familia «*Tubificidae*». E' verdade que não pode ser associada ao genero *Aulodrilus*, visto não representar branchio o segmento anal, geralmente sem cerdas. Ainda não foram observados os orgãos sexuaes na *Schmardaella*, de modo que por hora a sua posição systematica não pode ser estabelecida com certeza absoluta. Talvez a estructura dos nephridios e dos lymphocytos possa dar uma indicação de seu parentesco, o que a collocaria na visinhança dos generos *Rhizodrilus* e *Rhyacodrilus*.

Dou em seguida uma descripção de *Schmardaella lutzi* aproveitando o novo material e as observações do dr. LUTZ e juntando notas comparativas sobre a *Schmardaella filiformis* (SCHM.) do Perú, unica outra especie deste genero. Ella não é identica com *Schmardaella filiformis* BEDDAR do *Chile*, que hoje deve ser designada por *Paranais chilensis* MICH., sp. inquir.

SCHMARDAELLA LUTZI MICH.

Habitat observado: Na *Venezuela (Maracay)* em *Hyla venulosa* e *misera;* no *Brasil*, em *Hyla infulata* e *misera (Rio de Janeiro)*, em *Hyla rubra (Bello Horizonte* e *São Paulo)*. Encontrada nos ureteres (ductos de WOLF ou de LEYDIG) dilatados, alcançando o numero até 8 ou 9 de um lado. Faltam orgãos sexuaes, mas observam-se regenerações em uma das extremidades ou nas duas.

Dimensões: O maior exemplar, com

(1) Uma vez apenas encontrei uma cerda solidaria logo atraz da base do segmento anal.

extremidade anterior normal e posterior em regeneração, mede, com exclusão deste ultimo, 7,5 mm. em comprimento e 0,15—2 de espessura; tem 50 segmentos carregando cerdas e um sem estas. Outros vermes, regenerados dos dous lados, apresentam 16, 30 e 36 segmentos normaes com cerdas entre os regenerados (*Schm. filiformis* tem 16 segmentos normaes e mede 2 para 0,1 mm.).

Coloração do animal vivo ligeiramente avermelhada, do conservado esbranquiçada e sem pigmento.

Lobo cephalico normal bem accusado, arredondado em forma de cupola, pouco mais comprido que a largura da base mal destacado do primeiro segmento (em *Schm. filif.* com ponta anterior).

Segmentos bem distinctos, duas vezes mais grossos do que compridos quando occupam as extremidades normaes e na parte media apenas em relação de 1,5: 1. Primeiro segmento curto, mas bem definido.

Cerdas presentes apenas em feixes ventraes com pontas bifidas em gancho, geralmente 4, ás vezes apenas 3 no feixe. Com 85 *micros* de comprimento para 2 de largura, são relativamente grandes e curvadas em forma de S alongado. A metade proximal é mais curvada que a distal, os dentes da forquilha de comprimento egual, mas o superior um tanto mais fino; o comprimento dos dentes e a sua distancia nas pontas é bastante maior que a grossura das cerdas. (Schm. filif. Tres cerdas uncinadas no feixe. Na figura inexacta apparecem pouco curvadas e com ponta simples.)

Parede do corpo muito delgada, *hypodermis* bem fina, Musculos longitudinaes formam apparentemente uma camada simples de fibrillas estreitas e achatadas, dispostas em direcção approximadamente vertical á parede do corpo tocando á musculatura circular com a margem fina.

Cavidade do corpo muito reduzida, devido ao desenvolvimento forte das cellulas chloragogenicas do intestino. Encontram-se n'ella numerosas agglomerações de lymphocytos; são cellulas de forma oval, mais ou menos regular, de grossura de cerca de sete micros, cujo conteúdo mostra granulações muito finas e iguaes, coradas em violeta pallido pela tincção com hematoxylina e eosina, emquanto que o nucleo, pequeno e arredondado, toma uma côr violeta ennegrecido. Nestas agglomerações, as cellulas podem tornar-se polyedricas em consequencia de pressão alternante.

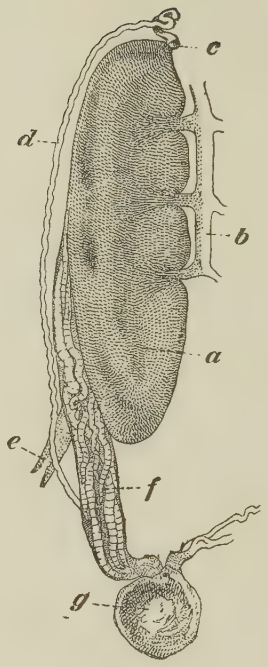
O systema nervoso central mostra organisação normal. O cerebro, volumoso e quasi impar, lembrando na forma o dos *enchytraeidecs*, excede em comprimento a largura por quasi a metade; tem chanfradura medio-posterior de profundidade incerta e forma anteriormente as commissuras pharyngeas com bifurcação em angulo muito agudo. Os ganglios do cordão abdominal, na parte anterior muito largos e conchegados, são separados no corpo medio por intervallos fibrosos sem cellulas ganglionares.

O intestino, abstrahindo do revestimento de cellulas chlorogogenas, é muito fino em toda a sua extensão. O pharynge é caracterisado por cellulas evidentemente chromophilas rodeando-o dorsal e lateralmente e formando massas apparentemente lobadas. Não apparece um bulbo pharyngeo distincto. A respeito da *Schm. filif.* SCHMARDA diz: «o bulbo pharyngeo é comprido com a parte posterior estreitada», o que podia indicar um desenvolvimento fraco do mesmo. O proprio intestino medio é muito delgado e fino nos cortes transversaes, podendo mostrar apenas 5 cellulas epitheliaes. Apresenta alças curtas mas largas. (Na *Schm. filif.* tambem é tortuoso). Contrastando com o intestino medio o revestimento de cellulas *chloragogenicas* mostra um desenvolvimento enorme.

As cellulas muito apertadas são pyriformes, alongadas e pouco grossas e occupam a maior parte da cavidade visceral. O seu nucleo, pequeno e arredondado, se tinge em violeta ennegrecido pela haematoxylina e eosina, mas as granulações bastante grossas tomam uma côr vermelha. A cavidade intestinal mostra-se fechada em trechos extensos pelo contacto completo das paredes. Nos exemplares do Brasil se percebiam partes onde uma cavidade relativamente estreita é repleta de massas alimenticias. Appareciam em grumos arredondados de substancia finamente granular, na qual existem disseminados granulos mais escuros lembrando materias albuminosas coaguladas, que se pode attribuir a secreções do hopedador. Assim, pelo menos os exemplares brasileiros, parecem endoparasitos legitimos. Contudo dois exemplares de Venezuela differem por conter em alguns pontos do intestino medio pequenos grupos de cascas de *diatomeas* dando lugar á questão donde ellas provinham. Teriam os vermes abandonado temporariamente o hospedador para procurar alimentação no ambiente? Esta hypothese não é indispensavel. Os vermes podem ter engulido as diatomeas na cloaca dos batrachios junto com materias fecaes. Convem notar que nestes dous vermes que talvez tiveram uma alimentação mais pobre em albumina, tambem as cellulas chloragogenicas pareciam menos abundantes, mas não se pode excluir que ha apenas uma differença de conservação e de contracção. Contudo essas differenças lembram as, que observei no intestino de *Stercutus niveus* em exemplares que viveram em cadaveres de animaes e outros que tiveram de contentar-se apenas com terra rica em humo. (Bibl. nº. 2 e 3).

O intestino terminal não é mais largo que a parte do meio.

O systema vascular de sangue dos vermes observados é distribuido de modo muito differente conforme as variações



Metade direita do apparelho urogenital de uma femea de Hyla rubra.

a—Rim, b—Vena cava posterior, c—Ostium abdominale do oviducto, d—oviducto ou ducto de MUELLER, e—vena iliaca communis, f—ureter ou ducto de WOLF, com 8 ou 9 vermes parasitarios, g—cloaca.

locaes da pressão de sangue. Creio ter observado claramente um *sinus* intestinal de sangue em alguns pontos do novo material examinado. O vaso dorsal corre em toda a extensão do corpo profundamente envolvido na camada de cellulas cloragogenicas sendo igualmente espesso e tortuoso com sinuosidades largas. Em comprimento correspondem ao das sinuosidades do intestino, mas em largura extendem-se muito mais, de modo que o vaso dorsal não decorre accuradamente por cima da linha mediana dorsal do intestino, mas dentro da camada densa de cellulas chloragogenicas, alternativamente á direita e esquerda. Va-

sos de commissura existem provavelmente, mas não são claramente visiveis.

Os nephridios lembram na sua estructura os dos generos *Rhizodrilus* e *Rhyacodrilus* pertencentes aos *tubificideos*. São massas alongadas e irregularmente espessadas, nas quaes um canal delgado serpenteia em voltas estreitas e labyrinthicas formando bifurcações e anastomoses. No corte transversal de um dos vermes vi o ducto excretorio de um nephridio desembocar do lado ventral em frente do feixe de cerdas. Tambem não era liso, mas mostrava espessamentos locaes e por dentro delle serpenteava o canal nephridial fino.

BIBLIOGRAPHIA

1)—W. MICHAELSEN — Beitraege zur Kenntnis der deutschen Enchytraeidenfauna. (Arch. mikr. Anat., Bd. 31, pg. 403, 1889).

2)—W. MICHAELSEN — Synopsis der Enchytraeiden. (Abh. Ver. Hamburg, Bd. 11, Heft 1, pg. 20, 1889).

3)—W. MICHAELSEN — Schmarotzende Oligochaeten nebst Eroerterungen uber verwandtschaftliche Beziehungen der Archioligochaeten. (Mitt. Mus. Hamburg, Bd. 42, p. 199, Fig. C, 1926).

4) A. LUTZ — Communicação á Sociedade de Biologia do Rio de Janeiro, sessão de 15 de Setembro, 1926. (Segue o texto francez.)

SOCIÉTÉ DE BIOLOGIE DE RIO DE JANEIRO.
SESSION DE 15 DE SEPTEMBRE DE 1926.

Le dr. ADOLPHE LUTZ fait une communication sur les trématodes et oligochètes, observés dans les canaux excréteurs du rein de batraciens de l'Amérique méridionale.

«Le *Distomum cygnoides* ZEDER de la vessie urinaire des grenouilles d'Europe, connu depuis longtemps, n'est que le premier représentant d'un groupe assez nombreux d'espèces voisines qui habitent le même organe de batraciens de régions distantes et situées dans plusieurs continents. On distingue *Gorgodera* à testicules nombreux de *Gorgoderina* qui n'en a que deux et comprend trois espèces brésiliennes, décrites par TRAVASSOS, dont l'une, *parvicava,* est très commune. J'en ai trouvé une quatrième, *Gorgodera permagna,* qui ressemble assez à *parvicava,* mais est au moins deux fois plus grande que celle-ci et les autres espèces connues. Elle n'est pas très rare chez le *Leptodactylus pentadactylus,* mais je ne l'ai jamais observée dans un autre hôte. Une cinquième espèce ne m'est connue que de *Vénézuéla,* ou je l'ai trouvée dans deux batraciens très différents. Elle a la ventouse orale assez grande et l'acétabulum énorme. Les vitellaires sont rapprochés et ramifiés ce que j'exprime dans le nom générique *diaster.* Quoique variable dans sa grandeur, elle n'atteint pas les dimensions de *permagna.*

A *Maracay,* en *Vénézuéla* j'ai observé aussi des parthénites de cette espèce (et peut-être d'une autre), dans deux petits bivalves d'eau douce, un *Cyclas* qui parait être le *bahiensis* de SPIX et un *Sphaerium blanc* très petit et pas encore déterminé. Mon observation confirme celles, faites pour une *Gorgoderina* d'Europe. La queue des cercaires est énorme et rappelle une petite larve aquatique. Elle peut contenir le corps de la cercaire et servir de proie à des larves d'odonates. La cercaire engloutie forme dans la paroi de l'esophage un kyste peu distinct, mas caractérisé par les ventouses du petit trématode. Depuis longtemps j'ai été impressioné par le fait qu'on ne trouve guère de *gorgoderinas* jeunes dans la vessie et j'ai commencé à les chercher dans la partie supérieure du système excréteur. En effect les conduits efférents du rein contiennent assez souvent les formes jeunes. Dans le *Leptodactylus pentadactylus. Gorgoderina permagna* devient presque mûre et *Gorgoderina diaster* a été trouvée pleine d'oeufs dans l'urétère de *Pseudis paradoxa.* Chez la *Rana palmipes* il y avait des exemplaires dans la vessie, mais le plus grand se trouvait dans l'urétère.

Ils habitent surtout l'urétère ou canal de WOLFF ou de LEYDIG qui est dilaté quand les parasites sont adultes.

Vu que l'urétère et la vessie des batraciens s'ouvrent dans le cloaque sans communiquer directement, l'observation est intéressante, mais ces recherches m'ont donné encore un résultat bien plus remarquable. En effet j'ai trouvé dans la même localisation des vers d'une autre classe dont le parasitisme chez les vertébrés n'avait pas encore été établi. Il se traite de *chétopodes oligochètes,* caractérisées par leur soies segmentaires. Je les ai observé d'abord à Rio, puis, en plus grand nombre, à *Maracahy* en Vénézuéla dans la grande *Hyla venulosa* et la toute petite *Hyla misera.* Au Brésil je les ai trouvé dans *Hyla albomarginata, rubra* e *bilineata,* mais assez rarement, en trois régions bien distantes: Rio de Janeiro, Bello Horizonte e São Paulo. Il y a généralement plusieurs exemplaires de chaque côté.

Pour la détermination je me suis adressé a un spécialiste très connu, le Prof. MICHAELSEN du musée de Hambourg. Il les a classifié comme seconde espèce d'un genre peu connu avec le nom de *Schmardaella lutzi.*

On a observé jusqu'à soixante segments, mais pas de vers sexuellement murs. Il parait que la propagation a lieu par fragmentation avec régénérations des extrémités amputées et dans la dernière *Hyla rubra* de S. Paulo tous les vers, quoique vivants, étaient très imparfaits, les deux plus longs n'ayant que 15 e 30 segments.

Il n'y a guère de doute que l'infection se fait par la bouche quant les têtards, relativement grands, des *hylides* se nourrissent de la fange et du dépôt des eaux qu'ils habitent. M. MICHAELSEN a même trouvé des diatomes dans l'intestin des vers, qui probablement provenaient de l'intestin des têtards où elles sont fréquentes, et non du cloaque des adultes qui vivent d'insectes.

Le Dr. LUTZ montre des préparations des *Gorgoderas* e de la *Schmardaella,* ainsi qu'un dessin très clair du prof. MICHAELSEN qui montre les vers *in situ.* Il sera reproduit dans une note descriptive de M. qui doit paraître dans les *Mémoires de l'Institut* OSWALDO CRUZ.

Über Schmardaella lutzi Mich., ein endoparasitisches Oligochät aus Südamerikanischen Laubfröschen.

Von W. MICHAELSEN (Hamburg)

(Mit einer Abbildung im Text)

Vor kurzem sandte mir Herr Dr. LUTZ, der Entdecker des interessanten endoparasitischen *Oligochäten* von südamerikanischen Laubfröschen, neues Material, das mich in den Stand setzt, meine erste Beschreibung (1) dieses Schmarotzers in einigen Punkten zu ergänzen und einige Irrtümer richtig zu stellen. Das neue Material enthält die rechte Hälfte des Urogenitalapparats einer weiblichen *Hyla rubra* von Bello Horizonte, der Hauptstadt der Provinz Minas Geraes in Brasilien. Das Präparat zeigt in dieser rechtsseitigen Hälfte (dargestellt in nachfolgender Textfigur) den oben aus der Niere hervorgehenden, unten in die Kloake einmündenden WOLF'schen Gang, der stark aufgebläht und fast in ganzer Länge prall mit Schmarotzerwürmchen gefüllt war.

Die spätere Freilegung der Würmchen ergab, dass es sich um 8, wenn nicht um 9, Stück handelte. Der WOLF'sche Gang der linken Seit war abgerissen. Es hafteten noch 3 Würmer an den Fetzen: 4 von Dr. LUTZ herauspräparierte waren dem Präparat beigegeben; es waren also mindestens 7 Stück im linken Gang, mindestens 15 in dem ganzen Urogenitalapparat des Frosches enthalten gewesen.

Der Konservierungszustand der Würmer, wenngleich besser als der des Originalmaterials, genügt noch nicht für die Feststellung der feineren Gestaltungsverhältnisse.

Auffallend und bedeutsam ist zunächst, dass keines der 15 Stücke aus jener *Hyla rubra* ein normales Kopfende aufwies. Mehrere Stücke zeigten scharf abgesetzt von einem anscheinend normalen Mittelkörper ein deutlich in Regeneration begriffenes Kopfende, dünner als jenes Mittelkörperstück und mit

(1) W. MICHAELSEN, 1926, Schmarotzende Oligochäten nebst Erörterungen über verwandtschaftliche Beziehungen der Archioligochäten. In: Mitt. Mus. Hamburg, Bd. 42, p; 100, Fig. C.

mehr oder weniger undeutlicher Segmentierung, wenngleich der Kopflappen schon deutlich als solcher zu erkennen war. Nur bei einem solchen regenerierten Kopfende war die Segmentierung, hauptsächlich markiert durch die Borsten, soweit vorgeschritten, dass die Zahl der regenerierten Kopfsegmente, ausser dem Kopflappen 5, davon 4 mit Borsten, festgestellt werden konnte. Die Vorderenden anderer Stücke sahen so aus, als ob sie erst kürzlich abgebrochen und kaum durch Regeneration geschlossen waeren; andere zeigten nur einen kleinen, nicht segmental differenzierten Regenerationsstummel.

Die meisten Stücke stimmen in Hinsicht der äusseren Gestalt des Hinterendes mit den Originalen überein; doch erweist sich die Bildung, dass das gesonderte borstenlose Analstück dicker als das anschliessende borstentragende Rumpfsegment ist, als seltene Ausnahme.

Auch der anscheinende Blutreichtum dieses Analstückes ist nur eine gelegentliche Erscheinung, zweifellos eine Folge besonderer Kontraktion bei der Abtötung, die das Blut in das Hinterende treiben mag, wie es bei anderer Kontraktion in andere Körnerteile gedrängt wird, manchmal nachgewiesenermassen in das Kopfende. Meine frühere Ansicht, dass dieser Blutreichtum das borstenlose Analstück als Kieme kennzeichnet, vergleichbar etwa der Röhrenkieme des Tubificiden *Aulodrilus*, verliert hiermit ihre Hauptstütze. Ich gebe diese Ansicht deshalb zu gunsten einer anderen auf und behaupte, dass diese abgesetzten, meist (1) borstenlosen Analstücke nichts anderes sind als Hinterend—Regenerate an hinteren Bruchenden, entsprechend den oben geschilderten Kopfend—Regeneraten an den vorderen Bruchenden.

Wir haben es hier also anscheinend mit einem Vorgang zu tun, wie er von dem Lumbriculiden *Lumbriculus variegatus* (MULL.) bekannt ist, dem Zerfallen eines Individuums in unregelmässige Bruchstücke durch Abschnürung in den Intersegmentalfurchen und darauffolgender Regeneration des Hinter-und (bzw. oder) des Vorderendes vom hinteren und (bzw. oder) vorderen Bruchende aus, einer Vermehrung durch Regeneration nach unregelmässiger, unvorbereiteter Zerstückelung. Der regelmässigen Teilung bei vorhergehender Bildung von Sprossungszonen, wie sie für die *Naidina* charakteristisch ist, kann dieser Vorgang sicherlich nicht gleichgestellt werden. Sprossungszonen waren bei *Schmardaella lutzi* in keinem Falle nachweisbar, selbst nicht bei einem Stück, das vom normalen Vorderende bis zum Anfang des regenerierten Hinterendes fast 7 1/2 mm. mass und 60 Segmente besass.

Da sich aus diesem Grunde eine Einreihung der *Schmardaella* in die Familienreihe der *Naidina* nicht rechtfertigen lässt, so kann sie wenigstens einstweilen nur in die Familienreihe *Tubificina*, bzw. in die Fam. *Tubificidae* gestellt werden. Allerdings ist der nähere Anschluss an die Tubificiden—Gattung *Aulodrilus* hinfällig mit dem Nachweis, dass das meist borstenlose Analstück nicht als Kieme angesprochen werden kann. Da Geschlechtsorgane bei *Schmardaella* bisher nicht beobachtet wurden, so ist eine sicher richtige Einordnung der Gattung zur Zeit nicht ausführbar. Vielleicht aber gibt die Struktur der Nephridien und der Lymphocyten einen Fingerzeig für die Verwandtschaft der Gattung: Hiernach müsste sie in die Nähe der Gattungen *Rhizodrilus* und *Rhyacodrilus* gestellt werden.

Ich lasse eine Beschreibung vom *Schmardaella lutzi* unter Berücksichtigung auch des neuen Materials, sowie unter Einfügung von Notizen des Sammlers, Dr. A. LUTZ, folgen und füge ihr auch vergleichende Angaben über die

(1) Bei einem Stück fand ich eine Borste dicht hinter der Basis an dem sonst borstenlosen Analstück.

einzige andere *Schmardaella* Art. *Sch. filiformis* (Schm.) von Peru (1) ein.

SCHMARDAELLA LUTZI MICH

Fundangaben: Venezuela (Maracay), in *Hyla venulosa und misera. Brasilien, (Bello Horizonte und São Paulo),* in *Hyla rubra, Rio de Janeiro,* in *Hyla albomarginata und bilineata.* Zu mehreren (bis 8, wenn nicht 9) in den aufgeblähten WOLF'schen Gängen des Wirtstieres.

Vorliegend zahlreiche Stücke ohne Geschlechtsorgane mit Regeneration am Hinterende oder am Vorderende oder an beiden Enden.

Grössenverhältnisse: Grösstes Stück mit normalem Vorderende und regeneriertem Hinterende 7 1/2 mm. lang, 0,15-0,2 mm. dick, mit 60 Segmenten (59 borstentragenden) vor dem hinterend-Regenerate. Stücke mit Regeneraten an beiden Enden z. B. 16,30 und 36 normale Borstensegmente zwischen den Regeneraten aufweisend. *(Sch. filiformis* 2 mm. lang, 0,1 mm. dick mit 16 Segmenten).

Färbung der lebenden Tiere nach Angabe des Sammlers blass rötlich. Konservierte Tiere farblos bleich; pigmentlos.

Kopflappen am normalen Vorderende deutlich ausgeprägt, einfach gerundet, kuppelförmig, sehr wenig länger als basal breit, nicht scharf vom 1. Segment abgesetzt (bei *Sch. filif.* vorn spitz auslaufend).

Segmente scharf ausgeprägt, an den normalen Körperenden ungefähr doppelt so breit wie lang, am Mittelkörper etwa um die Hälte breiter als lang. 1. Segment kurz, aber deutlich ausgeprägt.

Borsten nur in ventralen Bündeln vorhanden, lediglich gabelspitzige Hakenborsten, meist zu 4, selten nur 3 im Bündel. Sie sind verhältnismässig gross, ungefähr 85 μ lang und 2 μ dick, S—förmig gebogen, in der entalen Hälfte stärker gebogen als in der ektalen, annähernd gleichzinkig gegabelt, mit etwas dünnerer oberer Gabelzinke. Die Länge und Spannweite der ziemlich stark gebogenen Gabelzinken ist beträchtlich grösser als die Borstendicke *(Sch. filif.:* Borsten zu 3 im Bündel, «hakenförmig» bzw. «*uncinatae*», nach Abbildung einfach gebogen, einfach spitzig, (ungenaue Abbildung ?).

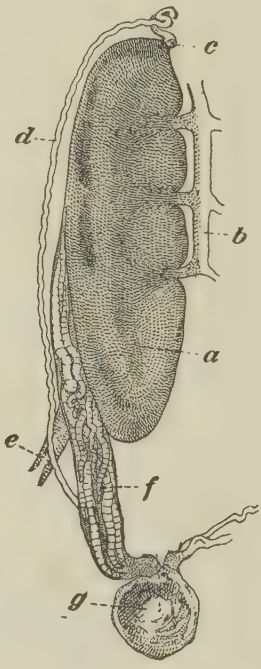
Leibeswand recht zart, *Hypoderm's* sehr dünn. Die Längsmuskulatur besteht aus einer anscheinend ganz einfachen Schicht ziemlich schmal bandförmiger Muskeln, die mehr oder weniger genau senkrecht zur Leibeswand gestellt sind, mit einer Kante an die Ringmuskelschicht stossend.

Leibeshöhle infolge der starken Ausbildung der *Chloragogenzellen* des Darmes sehr beschränkt. Man findet in ihr stellenweise Gruppen zahlreicher *Lymphocyten,* mehr oder weniger regelmässig eiförmiger Zellen von etwa 7 μ Dicke, deren zart und gleichmässig granulierter Inhalt sich in Hämatoxylin-Eosin sehr hell violett färbt, während der kleine, annähernd kugelige Kern eine violett-schwarze Färbung annimmt. Da die oft zu engen Gruppen zusammengeschwemmten Lymphocyten sich gegenseitig pressen, so erscheint ihre ursprünglich wohl rundliche Form polyedrisch abgeändert.

Zentralnervensystem durchaus normal ausgebildet. Gehirn massig, fast unpaarig, an die Gehirnform der *Enchyträiden* erinnernd, etwa um die Hälfte länger als breit, hinten median ausgeschnitten (? seicht oder etwas tiefer), vorn unter sehr spitzem Gabelwinkel in die Schlundkommissuren übergehend. Ganglien des Bauchstranges im Vorderkörper sehr breit, gearängt, im Mittelkörper durch ganglienzellenlose Stränge von einander getrennt.

(1) Nicht identisch mit *Sch. filiformis Beddard* von *Chile,* die jets als *Paranais chilensis MICH. sp. inquir.* zubezeichmeo ist.

Der *Darm* ist, abgesehen vom Chloragogenzellenbesatz, überall sehr dünn. Der *Pharynx* ist gekennzeichnet durch anscheinend lappige Zellmassen, die ihn lateral und dorsal umlagern, offenbar chromophile Zellen. Ein Schlundkopf ist nicht deutlich erkannt worden. (Auch Schmarda's Angabe von *Sch. filif.*: Der Schlundkopf ist lang, der hintere Teil verengert, deutet vielleicht auf eine schwache Ausprägung des Organs hin.) Der eigentliche Mitteldarm ist sehr dünn und eng. Querschnitte durch ihn treffen manchmal nur 6 Epithelzellen. Er ist dabei ziemlich breit-und kurz-geschlängelt (*Sch. filif.*: «Der *Darm* ist gewunden»). Im Gegensatz zum eigentlichen Mitteldarm ist der Chloragogenzellenbesatz enorm entwickelt. Die dicht gedrängt stehenden, schlank birnförmigen Chloragogenzellen nehmen meist den grössten Teil der Leibeshöhle ein. Sie besitzen einem kleinen, annähernd kugeligen, sich in Hämatoxylin-Eosin schwarzviolett färbenden Kern und ziemlich grobe, sich rot färbende Granulationen. Das Lumen des Mitteldarmes ist in der Regel in langen Strecken durch vollständigen Zusammenschluss der Wandung geschwunden. Bei den brasilianischen Stücken zeigt sich an manchen Stellen ein verhältnismässig enges Lumen, das von Nahrungsmassen ausgefüllt war. Diese erschienen als rundliche Klumpen einer ziemlich zart granulierten Masse, in der zerstreut dunkler gefärbte Körnchen auftreten, wie geronnene Eiweissmassen, mutmasslich Absonderungen des Wirtstieres. Diese brasilianischen Tiere wenigstens sind also anscheinend echte Endoparasiten. Etwas abweichend verhalten sich 2 Stücke von Venezuela. Bei diesen fanden sich stellenweise kleine Haufen von Diatomeenschalen im Mitteldarm. Es ist nun die Frage, wie sind die Tiere zu dieser Diatomeennahrung gelangt ? Haben sie ihr Wirtstier zeitweilig verlassen und sich ausserhalb desselben Nahrung gesucht ? Die Annahme solcher Ernährungsausflüge ist jedenfalls nicht unbedingt erforderlich. Die Würmer mögen in der Kloake des Batrachiers mit Fäcesklümpchen jene Diatomeen zu sich genommen haben. Bemerkenswert ist, dass bei diesen beiden Würmern, die vielleicht von weniger eiweissreicher Nahrung lebten, auch die Chloragogenzellen nicht ganz so üppig entwickelt schienen; doch ist nicht augeschlossen, dass hier eine Verschiedenheit der Konservierung und Kontraktion vorliegt. Jedenfalls erinnert diese Verschiedenheit an jene, die ich in der Struktur des Darmes von



Rechte Haelfte des Urogenitalapparates einer weiblichen Hyla rubra, vergr.

a—Niere, b—Vena cava posterior, c—Ostium abdominale des Oviductes, d—Oviduct oder MUELLERscher Gang, e—Vena iliaca communis, f—Harnleiter oder WOLFscher Gang, 8 oder 9 Schmarotzerwuermer enthaltend, g—Kloake.

Stercutus niveus MICH. fand bei Stücken, die sich von Tierkadavern ernährt hatten, und solchen, die mit gewöhnlicher humusreicher Erde vorlieb nehmen mussten (1).

Der Enddarm ist ebenso eng wie der Mitteldarm.

Das *Blutgefässsystem* ist anscheinend sehr einfach, das Blut bei den verschiedenen Stücken offenbar durch wechselnden Blutdruck sehr verschieden im Körper verteilt. An dem neuen Material glaube ich stellenweise deutlich einen Darmblutsinus erkannt zu haben. Das in ganzer Körperlänge verlaufende Rückengefäss ist tief in die Schicht der Chloragogenzellen eingebettet, ziemlich gleichmässig dick, in breiten Windungen geschlängelt. Diese Schlängelungen des Rückengefässes entsprechen in der Länge denjenigen des Darmes, in der Breite greifen sie aber viel weiter aus als die Darmschlängelungen, sodass das Rückengefäss nicht genau über der dorsalen Medianlinie des Darmes liegt, sondern innerhalb der dicken Chloragogenzellenschicht abwechselnd rechts und links am Darm verläuft. Kommissuralgefässe waren nicht ganz deutlich zu erkennen, aber doch mutmasslich vorhanden.

Die *Nephridien* erinnern in ihrer Struktur an die Tubificiden-Gattungen *Rhizodrilus* und *Rhyacodrilus*. Es sind unregelmässig verdickte längliche Massen, in denen ein ungemein dünner Kanal in vielen engen Windungen (labyrinthisch, mit Gabelungen und Anastomosen ?) verläuft. An einem Querschnitt dirch einen Wurm sah ich einen Nephridien-Ausführgang ventral vor dem Borstenbündel ausmünden. Auch der Ausführgang war nicht glatt, sondern stellenweise etwas verdickt, und auch in ihm beschrieb der feine Nephrialkanal noch Schlängelungen.

(1) W. MICHAELSEN, 1888, Beiträge zur Kenntnis der deutschen *Enchyträidenfauna*. In: Arch. mikr. Anat. Bd. 31, p. 403—1889, Synopsis der *Enchyträiden*. In: Abh. Ver. Hamburg, Bd. 11, Heft 1; p. 20.

ENSAIOS DE MYCOLOGIA

(Contribuição para o estudo dos cogumelos em Bello Horizonte)

por

OCTAVIO DE MAGALHÃES e AROEIRA NEVES

(Janeiro 1912—Junho 1920)

(Com as estampas 56–91.).

O presente trabalho vem trazer apagada contribuição ao estudo da parasitologia mycologica local.

Ha nelle apenas o essencial para a bôa comprehensão da nossa intenção.

Pormenores excusados, minucias bisantinas, não.

Observações quantas baste para bons exemplos, e para documentação cuidadosa do nosso esforço.

D'este poderiamos dizer aquillo que um grande medico disse no topo de um profundo livro; «nenhuma preoccupação nos domina afóra a de descobrir a verdade; e no culto della fomos aqui tão sinceros cómo por ventura na defeza do erro involuntario».

COGUMELOS ENCONTRADOS. MATERIAL E TECHNICA DE ESTUDO.

O material para estudo provinha do Hospital da Santa Casa, e da clinica civil. O material das lesões era o mais vario possivel. Não ha mister especifical-o. (Vide parte posterior). O que nos cumpre sim, é agradecer ao emerito e operoso Professor ALEIXO—todo o acervo de facilidades que nos proporcionou para a execução do nosso programma.

COGUMELOS ENCONTRADOS

Ascomycetos	Endomyces albicans	20	(**)
Hyphomycetos	Oidium brasiliense	40	(*)
	Esporotrichose	31	
	Malazzezia furfur	16	
	Epidermophyton inguinale	12	
	Trycophitos (equinium)	1	
	Microsporum	24	18 Lanosum 5 Audouini 1 Felineum
	Achorium	8	4 Gallinae 4 Schœnleinii
	Aleurophora (benigna)	5	(*)
	Blastosporados	6	(*)
	Trichosporum hortai	5	
	Microsiphonados	1	(***)
		169	

(*) Os cogumelos com este signal farão parte de trabalho separado, que por um de nós deve ser publicado n'outro logar.
(**) Considerados como Ascomycetos.
(***) Não estão incluidos cerca de 50 novos, de varias especies deqois disso observados.

- 1) Exames directos
  - Sem artificio (entre lamina e laminula)
    - definitiva (lut)
    - provisoria
  - Com artificio
    - sem coloração
      - com lactophenol
      - com potassa (40 °/o) a quente
    - com coloração
      - a fresco
        - azul de Coton
        - azul de methyleno
        - lactophenol-azul de Coton
        - → após differenciação
      - fixas
        - fixador
          - calor
          - alcool commum a quente
          - alcool methylico
          - alcool absoluto a frio
          - sublimado-alcool
        - corantes
          - azul de Coton
          - azul polychromico
          - Giemsa
          - hematoxylina fertica
          - hematoxylina eosina

- 2) Sementeiras
  - Sabouraud maltosado
  - « glycosado
  - « com rapadura
  - Agar glycerinado
  - Agar simples
  - Meio de Gorodkowa
  - Laminas seccas
  - Batata
  - Banana
  - Cenoura
  - Gotta pendente com meios varios

Inclusão e cortes d'algumas destas culturas. Exames macro e microscopicos destas culturas.

3) Inoculações	ratos, porcos da India, coelhos, macacos, gatos, homens	vias diversas
4) Biopsias	fixação	Formol 10 %; Sublimado-alcool (Schaudinn)
	coloração	Giemsa; Hematoxylina-ferrica; « eosina; « Van Gieson
5) Desenhos e mensurações	camara clara de Zeiss	preparações a fresco, coradas, definitivas ou não.
6) Reacções biologicas	Esporo-agglutinação; Reacção de fixação; Intra-dermo reacção mycotica	

Esquecemo-nos, nesse 6º capitulo, muito de proposito, das reacções de «agglutinação total» dos cogumelos. Ellas não se tem apresentado com efficacia em Mycologia. Não têm tido, pelo menos, a consagração das reacções identicas das bacterias.

O descobrimento de GRUBER e DURHAM, salvo por uma ou outra voz insulada, ainda não constitue elemento para diagnostico na pratica mycologica actual.

No presente trabalho, é preciso dizel-o, seguimos, no que respeita a systematica de cogumelos, o schema que um de nós traçou e que vem descripto These inaugural do Dr. MARIO COSTA (1919). (2)

(1) G. GUARELLI. Bul. de la Soc. de Pathologique Exotique T. XI, 1918, n. 10, 11 decembre, p. 820.

(2) Dr. MARIO COSTA—These—Rio, 1919, "mycose pulmonar pelo Oidium brasiliense".

ENDOMYCES ALBICANS.

O insulamento de tal cogumelo é commum, principalmente da saliva das crianças.

A cultura é caracteristica, assemelhando-se macroscopicamente, na maioria dos casos, á levedos, e n'outros á aspectos varios. O enrugamento da superficie de cultura é, porém, sempre pouco accentuado.

Não é frequente encontrarmos associados o *E. albicans* e o *O. braziliense* no mesmo escarro. Nunca encontramos observação clinica nitida (salvo casos de lesão buccal) de lesões attribuidas ao *E. albicans*. A biologia deste cogumelo é além de tudo caracteristica.

Os trabalhos de VUILLEMIN, que o collocou entre os *Ascomycetos*, familia das *Endomycetinae*, inspiram, todavia, duvidas varias sobre a unidade dos *Endomyces*.

Podemos adiantar que a verificação

de «ascos» nas culturas dos *E. Albicans* é difficil.

Só uma unica vez, examinando culturas em «lamina secca», conseguimos encontrar um asco, n'um typo de *Endomyces albicans*.

E, todavia, já numerosos methodos de meios pobres temos tentado para tal verificação.

Isto nos leva a crer que, ou entre os meios de reprodução de *Endomyces* o mais raro é o pelos ascos, ou existem varios typos de *Endomyces*. (1)

Dizem alguns autores que a sementeira deste cogumelo, n'um meio com creosoto, torna facil distinguil-o de outros. Elle não germinaria em tal meio.

Por nossa parte podemos assegurar que obtivemos sementeiras luxuriantes do *E. albicans* em nossas culturas com baixa percentagem daquella substancia.

Disso damos noticia no trabalho das Memorias do Instituto OSWALDO CRUZ sobre o «*O. braziliense*».

Um dos melhores processos para distinguil-o, é sem duvida a sementeira em meios alcalinos, aonde elle não se desenvolve, e a no de meios acidos, aonde elle se desenvolve abundantemente.

O interessante das culturas deste cogumelo, é que tambem nellas encontramos «formas bacillares».

Além dos meios até hoje empregados para a cultura deste cogumelo, ha ainda a espalhar um meio barato e simples—o com bananas. (Musa Parasidiaca). Obtem-se culturas luxuriantes e com bello aspecto na superficie da fruta.

Ha necessidade de preparar o meio com a fruta num ponto optimo de maturidade: nem muito verde nem muito madura. Prepara-se o meio como se tratasse de batatas.

Esse meio, aliás, tem sido empregado mesmo entre nós com vantagens. (2)

ALDO CASTELLANI: — The British Medical Journal, 1912, pag. 1208. Importance of Hyphomycetes and other fungi in tropical Pathology.

ALDO CASTELLANI: — The British Medical Journal, 24 Sept. 1910, pg. 868—869. Observations on Tropical Broncho-Oidiosis.

ALDO CASTELLANI: — Philippine Journal of Sciences, 1910, «Endomyces tropicalis».

ALDO CASTELLANI: — La Presse Médicale, 5 juillet 1917, nº 37, pag. 377. Note sur la Broncho-Spirochétose et les bronchites mycosiques.

ALDO CASTELLANI: — Centralbl. f. Bakteriologie... B. 58, p. 236.

ALDO CASTELLANI: — Further Observations on the fungi of the genus Endomyces found in Man. Arch. de Parasitologie, T. XVI. nº 2, 10 Julho 1913, pag. 184.

GARIN: — Les champignons du Muguet et ses manifestations anatomo-cliniques chez l'homme. Gazette des Hopit. 1914.

(1) Sobre este assumpto ha numerosos trabalhos principalmente de CASTELLANI.

(2) Prof. Dr. PIRAJA' DA SILVA—Duas novas especies de fungos productores de maduromycose no Brasil. Brasil-Medico, 15 de Março de 1919, n. 11, pag. 81.

«O BRASILENSE»

Desejamos insistir aqui no diagnostico deste cogumelo. Já um de nós (1) tratou do assumpto numa recente «Nota prévia». O processo para o insulamento, do escarro, deste arhyzophyto—póde servir de paradigma para o insulamento de muitos outros (filamentosos) do mesmo material.

O insulamento do escarro executa-se pelo processo das «laminas seccas», (2) do modo seguinte:

O escarro içado pelas partes mais grumosas, com uma alça de platina previamente super-aquecida, deve-se deixar escorregar, a meia altura, pela lamina a semear. Cahindo pelo proprio peso ou esfregado com branda pressão, elle acaba profundando-se no liquido ou pasta que barra de um dedo a extremidade inferior da lamina.

Quarenta e oito horas após, pela lamina, nas regiões contaminadas, surgem pontos microscopicos que uma observação cuidadosa mostra serem «estrellados». (3) O exame com lente de fraco augmento mostra, nestes pontos, um centro escuro, denso donde irrandiam pés curtos e delgados. Elles são reprodução fiel do que se consegue com os Esporotrichos. (4)

Uma destas colonias é transplantada para Sabouroud maltosado. Neste meio, vemos, muita vez, appareceram colonias pequenas (48 horas após), arredondadas, com o centro ligeiramente proeminente, superficie irregular ou não, de uma côr pardo-escura e cercadas de uma aureola de finissimas espiculas.

Estas ultimas são mais facilmente percebidas quando vistsa de soslaio. Com o crescimento vemos um aspecto egual ao representado no desenho nº 1. Toda contaminação bacteriana ou microbiana fica assim facilmente afastada.

Por outro lado, numa lamina unica, tem-se, ás vezes, o quadro botanico completo de cogumelo. Apresentamos as photographias n. 51 e 52, conseguidas de sementeiras em laminas seccas que nos fornecem novos aspectos da biologia do *O. brasiliense*.

Tinhamos já encontrado em preparação do *O. brasiliense* a «cellula resistente», grandes cellulas que WEIL descreveu nalgumas leveduras. Encontramos ali um aspecto que vem desvendar a origem dos elementos bacillares do cogumelo. É uma grande cellula, que após a formação interna de taes bacillos, por divisões successivas da chromatina e plasma, se rompeu e poz em liberdade os productos da divisão simples. Estes vão recomeçar o cyclo de cogumelo. É um verdadeiro kysto vegetativo.

Conseguimos acompanhar nas culturas do *O. brasiliense*, a evolução destas cellulas kystos até á dehiscencia.

No inicio são cellulas largas, de protoplasma uniforme e intensamente coradas pelo Giemsa. Não se distingue, neste periodo, no interior do plasma, o menor vestigio de divisão. Com a evolução porém, vão se grupando massas de chromatina, e, em torno destas, nacos de protoplasma afilados. Em pouco, por sissiparidade, todo o plasma está fendido. Vem-se então cellulas largas, cheias de elementos bacillares aqui contudo perfeitamente coraveis pelo Giemsa, e, afinal, dá-se a dehiscencia.

Uma vez em liberdade recomeçam o cyclo-mycelio, conidios, etc.

---

(1) O. MAGALHÃES—Brasil-Medico, n. 24, 15 de Julho de 1918. Anno XXXII, p. 185.

(2) DE BEURMANN et GOUGEROT—Les Sporotrichoses. Paris, 1912, pags. 565-573, fig. 135.

(3-4) Vide photographias n. 48-49.

(5) O. MAGALHÃES—Memorias do Inst. Osw. Cruz Rio de Janeiro. Fasc. IV, T. X; Anno. 1918.

(1) Vide tambem photographias n. 48-49.

(2) GUILLERMOND. Les levures.

Recentemente o Sr. THEOBALD SMITH (1) descreveu um cogumelo, de alto polymorphismo, como causador de uma pneumonia epizootica nos bezerros pequenos.

Ao lado das fórmas bacillares numerosas outras foram descriptas em coccos e conglomerados de actinomyces. Por todo o artigo perpassa todavia, um certo grau que de incerteza, que assoberba sempre todo aquelle que se inicia ou mal conhece o dominio dos arhyzophitos.

No trabalho fundamental de FRANCIS G. BLAKE (2) com respeito ao Sodoku, e nos que, sobre o mesmo ou proximo assumpto (3) lhe succederam vemos sempre descripto um cogumelo, no qual ao lado de um accentuado polymorphismo, ha numerosas e constantes formas bacillares.

ESPOROTRICHOSE (4)

Os casos de *esporotrichose* são, como os de *Oidiose* e os de *Microsporia,* aquelles que maior percentage dão presente trabalho. A maioria dos casos clinicos—cerca de 31—era de lesões lymphagiticas onde ainda se divisavam os cancros iniciaes esporotrichoticos. (vide observações ns. 1, 2 e etc).

Um caso interessante, foi o da observação de um menino, onde a lesão inicial na bochecha, ahi permaneceu durante largo tempo, insulada, gommosa, purulenta.

Houve repercussão minima para a rede ganglionar do pescoço e sub-maxillar.

A cicatriz indelevel e vasta estabeleceu-se pela eliminação do tecido necrosado, após o tratamento pelos Iodetos.

Observámos tambem, uma localisação ganglionar no pescoço. O doente veio a consulta como suspeito de doença de HODGKIN.

Encontramos, nos esfregaços do material recolhido pela punção, formas suspeitas de cogumelo.

As sementeiras, em SABOURAUD maltosado, deram culturas puras e bastante pigmentadas.

Neste caso não havia cancro inicial da infecção. Provavelmente, dada a séde da lesão ganglionar, a penetração se fizera pela mucosa buccal ou pelas amygdalas.

É sabido que os *Esporotrichos* pódem ser encontrados na cavidade buccal independente de qualquer lesão. Não é muito pois que imaginemos, mórmente em se tratando de uma creança, qualquer effracção da mucosa ao nivel das arcadas dentarias ou fóra dellas, para porta de entrada do cogumelo.

Nem seria a primeira vez que a historia da esporotrichóse registrasse uma tal observação.

A observação nº VI de BEURMANN e GOUGEROT, é, sobre esses assumptos, muito expressiva (1).

No caso presente só haveria a discutir a falta de lesão, pelo menos macroscopica, da mucosa bucco-pharyngiana.

Ao que nos conste, para os Esporotrichos, só recentemente pareceu ficar provado o poder de penetração pelas mucosas sãs, sem deixar vestigios.

Um de nós, estudando a biologia do «*Oidium brasiliense*», demonstrou todavia, experimentalmente em macacos essa interessante e temivel propriedade deste cogumelo.

Seria, talvez, para muita affecção mycotica de origem ignorada, o modo

---

(1) TH. SMITH. The Journal of Experimental Medicine V. XXIII n. 3, p. 333. September 1, 1918.

(2) NIEF. Blake: The Journal of Eyperimental Medicine V. XXII, n. 1, 1 Jan. 1916. The Etiology of Rat–Bfte Fev. [Soduku].

[3] The Journal of Infections Diseases, N. 6, V. 23 pag. 555. December 1918. The Journal of Infections Diseases, V. 23, n. 2, August 1918.

(4) Chamada modernamente "Rhinocladiose".

(1) de BEURMANN et GOUGEROT—Les Sporotrichoses. Paris. Librerie Felix Alcan. 1912, pag. 315.

de penetração do parazito no organismo humano ou animal.

No capitulo de microbios pathogenicos para o homem isso não representaria uma excepção.

Outra localisação interessante, por primitiva e de possivel confusão com a tuberculose, é a que vemos na photographia nº. 11.

Observamos um outro caso muito semelhante, já nas suas manifestações clinicas, já nos resultados therapeuticos, já nos possiveis erros de diagnostico.

Neste segundo caso—o aspecto da lesão era francamente verrucoso. Aquelle era de séde epidermico-mucosa (nasal); este simplesmente epidermico.

Ha outro ponto que merece o reparo dos especialistas. É o da incubação. Quasi sempre os doentes, pódem precisar o modo de inoculação. Ora um espinho, óra um traumatismo qualquer, etc., são apontados como fonte da lesão.

Em quasi todos, todavia, fica mais ou menos obscura a questão da incubação.

O caso da nossa observação nº 1—lesão lymphangitica—é, porém, muito claro com respeito a este assumpto. Quarenta e oito horas após a escoriação, sem sangue e minima, por um espinho de roseira, iniciaram-se os primeiros symptomas da doença. Estes se expressavam em dores localisadas no ponto lesado, não impedindo comtudo o trabalho.

Estas manifestações dolorosas precederam as manifestações morbidas objectivas, que levaram a paciente ao Hospital (ulceração local e nodulos lymphangiticos).

Em quasi todos os nossos casos foi possivel observar o cancro inicial esporotrichotico.

As pesquizas que intentamos no laboratorio sobre o material suspeito, merecem algumas considerações.

Um ponto desde logo necessita ficar assentado: é da pobreza, na grande maioria dos casos, do material humano, em formas de cogumelo. (1)

Merecemos já certa vez, como que uma censura, a interpellação de como as preparações dos livros e mesmo dos mestres extrangeiros são riquissimas de taes parasitos: Pois bem; em 31 casos examinados no laboratorio, com a melhor technica possivel, só 3 vezes encontramos preparações microscopicas ricas de elementos do Arhyzophyto. Foram numerosos os resultados negativos pelo exame bacterioscopico.

As fórmas classicas são tambem raras. Deparam-se frequentemente as redondas, pequenas ou ovulares, com ou sem septo.

A fixação pelo alcool commum a quente, ou alcool methylico e a coloração pelo Giemsa, bastavam, quasi sempre, para um primeiro exame. As sementeiras eram obrigatorias para o material suspeito. Ellas decidiram sempre a questão.

Estas culturas eram feitas em «laminas seccas», em SABOURAUD maltosado, glycosado, ou com «rapadura».

As culturas dos esporotrichos nos 1º e 2º desses meios de culturas, não são pathognomonicos desses cogumelos.

Já um de nós, em artigo no Brasil-Medico de 15 de Junho de 1918, (Nº 24, pag, 185), tratou largamente do assumpto.

Culturas identicas são obtidas com o «*Oidium brasiliense*», o «*Endomyces albicans*», o «*Achorium Schoenleinii*", o «*Penicillum glaucum*», etc (Vide desenho nº 1).

Dissemos: «O duplo aspecto macroscopico, em «laminas seccas» e em SABOURAUD maltosado, é a reprodução fiel do que se consegue com os Esporotrichos. É um ponto para o qual pre-

(1) Vide observações n. 2, 3, etc.

cisamos chamar attenção dos especialistas. Na pag. 565 (ob. cit.) dizem De Beurmann et Gougerot:—

«Il faut bien remarquer que ce contrôle microscopique est inutile lorsque l'on a suivi la technique que nous avons reglée et que l'on fait couramment le diagnostic bactériologique de sporotrichose, sans étuve et sans microscope, avec un simple tube de gélose glycosée loin de tout laboratoire».

Na pag. 560:—«Les colonies sur gélose glycosée de SABOURAUD sont caractéristique dés leur apparition etc, etc.»

Na pag. 562:—«Ce n'ést donc que dans des cas exceptioonnels que le contrôle microscopique des cultures est nécessaire; c'est lorsque les cultures ont été faites sur des milieux défavorables ou sur des géloses glycosées-peptonées brulées ou trop veilles et dessechées».

Vemos, além disso, repetidas nos artigos por aquelles auctores subscriptos no tratado de KOLLE e WASSERMANN (1913) no tratado de GILBERT et BROUARDEL (1910), no livro «Les Nouvelles Mycoses» (Encyclopedie Scientifique des Aide Memoire—Direct.—Léauté), no livro da auctoria de Depter et Sacquépée (1914—Bacteriologie), no de E. Agasse—Lafont, no de Lustig (1913), emfim na maioria dos modernos trabalhos sobre o assumpto as mesmas asseverações. Este ponto precisa ser retificado.

Obtivemos culturas macroscopicamente identicas pelo processo das «laminas seccas» (vide photographias nº) como no proprio Sabourand maltosado (Desenho nº 1), com o «*Oidium brasiliense*» e o *Endomyces albicans*.

Aqui a semelhança não se limitava ao olhar desarmado (Photographia nº 50).

Examinando culturas em «laminas seccas» incipientes de «*Endomyces albicans*», podemos encontrar disposições que parecem photographias das que vemos dadas como caracteristicas dos *Esporotrichos*. (1) Só os exames posteriores macro e microscopicos podem desfazer a illusão. Já não falamos de certos cogumelos de vida livre e do «*Hemispora stellata*». A' estes os Srs. DE BEURMANN et GOUGEROT já se referiram como possivel causa de erro, embora de facil afastamento.

É preciso não esquecer, e disso temos larga experiencia, que os *Esporotrichos* nem sempre dão culturas typicas. O pleomorphismo, para empregar um termo consagrado, não é raro entre elles.»

O que é inconfundivel nos esfregaços e nas culturas em «laminas seccas» é a disposição classica da Familia da *Esporotrichaceas*, sub-ordem das Conidioseporadas, genero *Sporotrichum* (VUILLEMIN). Isso sim. O quadro botanico é sempre o mesmo. (2)

São raras as formas anomalas. Na obra citada de GOUGEROT vemos aspectos curiosos do parasito. O aspecto macroscopico, sob todas as suas formas, é vario e incerto. O estudo, por exemplo, do pigmento, foi, pelo Sr. DAVID J. DAVIS, (3) feito de um modo claro.

Elle deixou provado como esta questão de pigmento nos *Esporotrichos* não

---

(1) Vide: "Les Sporotriches, pag. 568, fig. 133, ob. cit; Maladies parasitaires communes a l'homme ei aux animaux, ED. BAILLIEU et FILS, 1910, V. IV, p. 403; fig. 22; KOLLE u. WASSERMLNN HANDBUCH etc. ed. 2. 1913. Iena. G. F. V. V. pag. 249, fig. 24".

(2) DE BEURMANN et GOUGEROT ob cit. e de BEURMANN et COUGEROT: Etat actuel de la question des Spirotrichoses. Arch. per. Dermatologie no Syphi. B. 110—p. 15—911.

(2) DE BEURMANN et GOUGEROT. Les nouvelles mycoses. Collection Liauté. KOLLE und WASSERMANN Haudbuch ect. 1913 ob. cit.

(2) Langeron. Bull. Soc. Patholog. Exotiq. T. XV, 1922 pag. 453—459. Quer, hoje, o Sr. Langeron que este grupo comprehenda Esporotrichos e Rhinocladios. (antigos Esporotrichos). M. Langeron—Les Sporotrichoses. Nouveau traité de Medicine IV, pag. 448—466. 1921. Paris—Masson.

(3) DAVID JOHN DAVIS. Chromogenis in cultures of Sporotrichs—in The Journal of Infections Diseases. vol. n. 1 pag. 174. 1915.

serve de modo decisivo para a sua classificação. Acreditamos que essa demonstração da falibilidade da pigmentação, para questão de systematica, no genero Sporotrichum se estenda, a breve trecho, a grande numero de cogumelos conhecidos.

Podemos, com algumas experiencias, dizer que não só confirmamos a asseveração daquelle auctor como asseguramos que tambem é falho o criterio do aspecto macroscopico das culturas.

Culturas com aspecto classico apresentam as photographias nos. 3, 4, 2 . e 5.

Outras, que mais assemelham ás culturas dos levedos. (Phot. no. 5).

Ha culturas completamente cobertas por finissimos pellos (aspecto avelludado).

Com a evolução desapparece este aspecto.

Obtivemos uma amostra de cultura classica, que, com o tempo, se transformou num typo muito semelhante ao do «*Proteomyces infestans*». A semelhança aqui, não era apenas macroscopica. Foi mesmo, até hoje, a unica observação que colhemos de anomalia botanica dos *Esporotrichos*.

A anomalia era constituida, pela grossura do mycelio, pela forma dos esporos, e, até mesmo, em certos pontos, pela inserção estipitada destes ultimos. Esta anomalia, que para muitos constituiria uma nova especie, deve ser emparelhada com aquell'outra que DE BEURMANN e GOUGEROT revelaram «a forma blastomycetica dos *esporotrichos*». (1)

Outro aspecto inconstante mas digno de registro, é o que se nos apresenta na photographia n. 6, aonde a cultura do parasito literalmente coberta de um pó esbranquiçado lembra a configuração de certas sementeiras de Blastoesporados. (DE BEURMANN et GOUGEROT ob. cit. pag. 93., consideram estes aspectos como pleomorphicos).

São verdadeiras hyphas aereas constituidas por mycelios juxtapostos e conidios caracteristicos. Esta configuração póde ou não desapparecer com repetidas replantagens.

Culturas ha que, de pigmentadas, se transformam em apigmentadas, como as repetidas replantagens. O inverso tambem se verifica.

Ha formas de parasitos que não são muito communs.

São coccos-pequenissimos, com ou sem duplo-contorno, e, principalmente, as formas bacillares. Estas encontramol-as, em abundancia, nos cortes do tecido de um caso clinico e microbiologico typico de *esporotrichose*.

Estas fórmas bacillares dos cogumelos só modernamente, e sobretudo entre nós, tem sido postas em evidencia.

Passaram durante muito tempo, ou silenciadas ou interpretadas como de soffrimento ou anomalias (1) (não fallando nos Discomyces).

As formas bacillares já foram vistas entre nós, com regular frequencia, no *Endomyces albicans, Oidium brasiliense, Achorium Schoemleinii e Blastoesporados,* (O. MAGALHÃES, A. NEVES).

São bacillos, na maioria das vezes, curtos, attarracados, apresentando ou não granulações varias. A origem destas fórmas bacillares foi por um de nós verificada no *Oidium brasiliense*. (Vide photographia n. 51 e 52).

Ellas tem origem semelhante áquell'outras, pequenas, em fórma de cocco com duplo contorno, descripta num typo de cryptococco por G. VIANNA, (2) nu-

(1) BROUARDEL, GILBERT, THOINOT: Maladies Parasitaires Communes a L'homme et a aux animaux. V. IV. Paris, 1910 pag. 380.

(1) DE BEURMANN et GOUGEROT, ob. cit. pag. 135.

(2) VIANNA G.: Molestia de Posadas Wernicke. Lesões appendiculares, 1913.

merosos americanos do norte, (1, 2) e que HARTMANN julgára um protozoario novo. Como nos cryptococcos, as formas do *Oidium brasiliense* tem origem numa grossa cellula arredondada, cuja dehiscência se faz irregularmente num rasgão em angulo agudo, e por onde emergem os bacillos. Estes, são formados por sissiparidade da massa nucleo-protoplasmatica da cellula mater. (verdadeiro kysto).

No capitulo das sôro-reacções esporotrichoticas, que muita vez tentamos, convem assignalar a excellencia da esporo-agglutinação em relação á reacção de «fixação do complemento» para os *esporotrichos*.

Esta póde falhar quando aquella é positiva.

Com respeito ao tratamento, convem ficar que, o emprego dos iodetos foi magnifico em 23 casos. Num houve resistencia manifesta, noutro a cura procedeu-se expontaneamente. A coexistencia de Syphilis é corrente nas observações das *esporotrichoses*. (Por verificações varias, inclusive a reacção de WASSERMANN).

Devemos deixar anotado que a inclusão e corte das culturas de *Esporotrichos*, como o das de Achorio dão indicações preciosas para os pesquizadores. A fixação deve ser cuidadosa em Sublimado-Alcool, a inclusão em Parafina, e a coloração pela Hematoxylina, com boa differenciação.

As inoculações dos *esporotrichos* nos animaes dão, quasi sempre, resultados apreciaveis. O rato sobre tudo foi o animal de que nos servimos com melhores proveitos no estudo deste cogumelo. Nada notamos neste capitulo além do que já GOUGEROT com minucioso cuidado anotou.

Ha apenas um facto, que a modo do que nos aconteceu com as lesões humanas, é digno de ficar:—a pobresa em parasitos dos esfregaços e cortes das lesões esporotrichoticas experimentaes.

Como anomalias de desenvolvimento dos *esporotrichos*, encontramos culturas cobertas de verdadeiras espiculas, lembrando as de certos blastoesporados.

OBSERVAÇÕES

Caso de Esporotrichose. (O. MAGALHÃES). Fórma lymphangitica, (correspondente a photographia n. 3).

M. T., brasileira, parda, 18 annos de edade, domestica. Antecedentes de familia: paes mortos, ignorando a causa. Nenhum irmão.

Antecedentes pessoaes: em creança sarampo, coqueluche, depois um pequeno ataque de rheumatismo que cedeu rapidamente.

Estando em serviço de plantação de roseiras, aconteceu ferir-se muito superficialmente, na face palmar do dedo pollegar da mão direita.

Dous dias após esse pequeno ferimento, que foi minimo, sem sangue e sem impedir a paciente de continuar o seu serviço, começou a sentir dores leves no ponto offendido (dores que permaneceram).

Dois mezes depois sobreveio-lhe uma pequena ulcera no mesmo logar, apparecendo logo a tumefacção ganglionar no dedo e nas faces externa e anterior do ante-braço direito; dentro de pouco tempo esse processo se estendia á axilla.

Alguns ganglios se ulceraram como muito bem se verifica na photographia junta, formando pequenas depressões perfeitamente circulares. Ausencia de

(1-2)—W, J, MOC,—NEAL B. TAYLOR: Coccidicidal Granuloma, The Journal of the Med. Research. July 1914. V. XXX, n. 3 pag. 1.

qualquer signal de syphilis hereditaria ou adquirida.

Wassermann—Negativo.

Demais orgãos em perfeito estado anatomico e funccional.

Tratamento:

IK em dóse de 3 grammas diarios e applicações locaes de tintura de iodo.

Esse tratamento deu prompto resultado, ficando a doente completamente curada dentro de um mez.

Diagnostico mycologico.

Sporotrichum—BEURMANN.

Cultura pura classica.

Inoculações em sagui e outros animaes, positivas.

Bello-Horizonte, Setembro, 1912.

J. M. S. Profissão—copeiro, 23 annos, solteiro. Nada de interesse havia na anamnese.

Ha 2 semanas notou uma «cabeça de prego» no bórdo interno do braço direito, no terço inferior. Em seguida á cabeça de prego ulcerou-se, attribuindo o paciente esta ulceração a frequentes traumatismos.

Logo que a ulceração começou a se estender, tornou-se mais tumefeita, appareceram diversos «caroços» e, ao nivel da articulação sentia dôr, que, porém, não o incommodava.

Actualmente apresenta uma ulcera de bôrdos irregulares e, ás vezes, mostrando na peripheria pequenos abcessos, dos quaes surge pequena quantidade de puz, quando comprimidos. No fundo da ulceração notamos pequenas vegetações de coloração rosea.

Na face anterior do antebraço, em sua parte media, ao mesmo nivel do cancro inicial, notamos a presença de 6 gommas, sendo a 4a. a mais desenvolvida.

Puncionamos esta e fizemos com o material colhido, esfregaços e culturas aproveitando assim uma lesão fechada para essas pesquizas. Ao nivel da prega do cotovello notamos uma outra gomma pequena, bem apreciavel ao tacto. No braço, acompanhando o bordo interno do biceps, observamos mais tres gommas, sendo as inferiores de menores dimensões. No terço inferior, entre o bordo cubital e uma linha passando pela parte média da face anterior do antebraço, nas proximidades do cancro primario, observam-se outras gommas á palpação e pela coloração arroxeada, que todas ellas apresentam.

Estado geral—bom.

Exame directo—negativo.

Exame cultural—positivo.

Sporotrichum-Diagnostico mycologico.

J. de O. S. Portuguez, casado, 27 annos, ceramista.

Ha 15 dias, mais ou menos, uma pequena espinha ou «cabeça de prego» vulgarmente chamada, do tamanho de uma cabeça de alfinete, ulcerou-se e foi augmentando progressivamente, até attingir as dimensões hoje existentes, que são de 1 cm. e alguns millimetros no diametro antero-posterior e transversalmente de 0,5 cm. approximadamente, localisada na face posterior do antebraço esquerdo.

Refere o doente não ter havido antes, nenhum traumatismo.

Actualmente nota-se a lesão inicial com as dimensões acima referidas mais ou menos. Nota-se em toda a peripheria uma zona inflammatoria, infiltrada, bem nitida. A lesão não é dolorosa e em nada incommoda ao seu portador. Mais para o bordo interno nota-se uma gomma. Mais acima e abaixo da articulação do cotovello, no mesmo bordo, notam-se tres nodulos, facilmente verificaveis pela coloração rosea. Acima destes, mais dous nodulos de menores dimensões, mas ainda nitidos, ao tacto, e com a mesma coloração. O estado geral do paciente é bom. Não tem tido febre. Na anamnese

conta que a mãe delle estava sempre doente com molestia do figado. Todos os irmãos nasceram a termo. O pae sempre sadio.

Diagnostico—Esporotrichose.
Tratamento—IK.
Reacção de fixação—negativa.

Exame microscopico do puz e da serosidade retirada da lesão fechada, negativo.

Exame cultural—positivo.

Diagnostico mycologico. Sporotrichum—Beurmanni. Curado.

19 de Setembro de 1917.

S. B. nº 5004. Nome—J. D. Edade 23 annos. Côr branca. Solteiro, nat. do E. de Minas; trabalhador. Residencia—Capella Nova do Betim, vaccinado. Admissão—18 de Agosto de 1917.

Anamnese—caso raro de localisação ocular, mereceu aprofundado estudo por parte do Prof. LINEU SILVA. (Vide communicação).

Antecedentes de familia—Pae vivo, com 55 annos. Mãe fallecida ha 8 mezes victima de uma molestia de garganta; quando viva deu á luz a 9 filhos, dos quaes 3 falleceram em tenra idade.

Antecedentes pessoaes—coqueluche, quando creança. Fractura de uma das pernas.

Historia da molestia actual—Ha um mez mais ou menos, notou o paciente que se formou um pequeno entumecimento no angulo interno do olho esquerdo; logo após feriu-o com a unha. Em seguida a isto, diz o paciente que um pouco abaixo do angulo interno do olho citado a pelle se tornou rubra dando formação a uma phlyctena. Em continuação a ella formaram-se mais tres entumecimentos na metade esquerda da face.

Estado geral—Apresenta actualmente, no angulo interno do olho esquerdo uma crosta verrucoide que deixa sair uma serosidade sero-sanguinolenta. Na metade esquerda da face notamos mais 4 gommas, duas das quaes já evoluiram em pustula e ha outras ainda endurecidas. Os ganglios sub-maxillares dos 2 lados acham-se invadidos, notando-se uma gomma que se approxima muito do ganglio sub-maxillar esquerdo e que se acha cheia de um puz com côr de café com leite, notando-se este facto pela puncção que nella effectuamos. Nota-se nesta parte da face uma infiltracção no trajecto dos vasos lymphaticos. O puz semeado em meio de SABOURAUD forneceu-nos cultura pura de Sporotrichum—BEURMANNI.

Diagnostico—Esporotrichose ocular (Dr. LINEU).

Prognostico—benigno.

Tratamento—IK.

Esporo—agglutinação com sôro de doente: (Technica de Joltrain)—positiva até 1/30—fortemente—e fraca a 1/50.

Reacção de fixação—Fracamente positiva. Diagnostico mycologico.

Sporotrichum BEURMANNI.

Observações devida ao Prof. ALEIXO.

S. B. 5081. Nome.... Edade 19 annos. Branco, solteiro, nat. do E. de Minas, lavrador. Residencia—Rio Acima. Vaccinado. Admissão 31 de Agosto de 1917. Anamnese:

Antecedentes de familia—Pae vivo, com 48 annos. Mãe fallecida ha 12 annos. Deu a luz a 5 filhos, dos quaes um falleceu na 1a. infancia.

Antecedentes pessoaes—Accusa ter tido sarampo. Foi sempre muito fraco. Já teve diarrhéa.

Historia da molestia actual—Ha 3 mezes mais ou menos, notou o apparecimento de uma bolha na face interna do calcanhar direito; esta bolha foi rompida pelo paciente e deixou escorrer uma serosidade citrina; o logar da bolha ulcerou-se logo depois. Nos dias que se seguiram, novas ulceras se formaram ao

longo do membro inferior direito. Ha um mês e pouco notou que os flexores da perna sobre a côxa entravam em contractura permanente.

Estado actual—apresenta na perna direita uma cadêa de ulcerações, que se inicia ao nivel da face interna do calcanhar direito e dahi se alastra até junto a prega da virilha. As ulcerações têm dimensões diversas; bordos descolados, de fundo vermelho e irregular, deixam surgir um puz amarello e grosso.

Diagnostico—Esporotrichose da perna.

Prognostico—benigno.

Exame directo—Bellissimas e abundantissimas fórmas *en navette*, em todos os esfregaços examinados.

Cultura—positiva.

Sporotrichum—BEURMANNI. Diagnostico mycologico.

Amb. 1779. R. M. 16 annos, morena, solteira, lavadeira. Minas Geraes. Quartel.

Ha 2 mêses começou uma doença dentro do nariz, caracterizada por uma dôr e mau cheiro. Consultou o Pf. Dr. RENATO MACHADO que lhe proporcionou melhoras, mas a doença se estendeu ao lóbo nasal, sob fórma de umas espinhas que coçam e dóem. Teve lombrigas. Tem irmãos sadios. Pae e mãe fortes. Nada mais diz.

Adenopathias cervicaes e supra-epitrochleanas. A séde indicada é levemente congesta (não de modo passivo), sobre este fundo congesto aflóram innumeras excrescencias como verrugas, de varias dimensões: desde uma cabeça de alfinete a um grão de arroz. Essas verrugas pouco consistentes são cobertas por uma crosta que retirada deixa ver uma superficie humida, mais branca, (contendo puz em seu interior em mui pequena quantidade), finamente mammillonadas. Nas partes onde não ha verrugas encontram-se escamas de revestimento. A mucosa nasal continua doente, vendo-se *mutatis-mutandis* as mesmas alterações (1, 2).

MALAZEZZIA FURFUR

As observações deste cogumelo são baseadas em cerca de 16 casos de Pityriasis versicolor.

Seguimos algumas das technicas indicadas no inicio deste trabalho. E' bem de ver que não obtivemos siquer um esboço de cultura nas sementeiras com o material rico do parasito.

OBSERVAÇÕES DE PTYRIASIS VERSICOLOR.

Observação 1.

S. B.—Solteiro, estudante, residente em Bello-Horizonte.

Placas de contorno geographico, escamosas, no peito e no dorso principalmente. Sementeiras em Sabouraud negativas. As manchas eram como si a pelle fosse queimada em determinadas regiões. Lesões circinadas, roseo desbotado, não raro cobertas de finas escamas. Fócos multiplos, quasi sempre pequenos. Havia confluencia para a parte posterior do tronco principalmente ao nivel das espaduas.

Braços poupados principalmente nas duas regiões inferiores.

Pescoço idem. Na região da confluencia, em contraste com a pelle clara, o aspecto das manchas é escuro. As manchas descem para o abdome em lesões esparsas e pequenas.

Evolução de 6 mêses. Prurido regular (9—7—917).

Diagnostico mycologico: Malazessia furfur.

---

(1) Vide ainda mais: DE BEURMANN e GOUGEROT ob. cit. pag. 558, 556, 568, 565, 562, 560.

(2) BRONARDEL e GILBERT e THOINOT: Nouveau traité de Medicine.

Maladies Parasitaires communes á l'homme et aux animaux. Librerie Baillière et Fils. 1910, pag. 402-403-401.

Observação 2.

J. C. L.—32 annos, casado, com um filho de 14 mêses. Paes mortos, Mãe morreu de molestia ignorada; pae de de uma congestão cerebral. Tem 13 irmãos creados. Morreram 3, sendo um durante o parto e 2 tuberculosos.

Teve catapora e sarampo. Ha 5 annos expelliu solitaria. Nunca teve, afóra as citadas, qualquer outra molestia infectuosa parazitaria. Nega syphilis.

Teve ha 7 annos Hematuria, e ha 3 uma colica tenebrante acompanhada de desarranjo intestinal. Dorme bem e come melhor ainda. A molestia actual começou a 6 annos. Iniciou-se pelo peito. Actualmente extende-se por esta região, costas e abdome. As manchas têm uma côr café com leite, e são irregulares. O aspecto é classico de Pityriasis. Com os banhos diz o paciente que as manchas desapparecem.

Foram feitas preparações e culturas em Sabouraud (estas negativas).

Diagnostico Mycologico: Malazezzia furfur.

Observação n. 3.

26 annos, solteiro, lavrador, branco, residente em Curvello.

Pae e mãe fortes. Teve 7 irmãos: um morreu aos 35 annos e dous outros são vivos. Teve sarampo, influenza. O paciente refere mais ter tido cancros molles, bouba, gonorrhea, adenites. Já tomou tres injecções de 914. Soffre tambem rheumatismo e dores de cabeça.

Actualmente o doente entrou para a enfermaria de Clinica cirurgica do Prof. BORGES DA COSTA, onde soffreu uma operação na abobada palatina, por perfuração da mesma, da origem luetica.

Para o lado da pelle: nas costas, dum ponto que parte do angulo interno do omoplata até a 1a. lombar, mais ou menos, percebem-se linhas convergentes e que se unem ao nivel da 1a. lombar acima referida. O espaço para fóra d'ellas apresentava-se completamente recoberto por uma só placa de pigmentação mais escura. Nesta placa ainda se percebiam, entretanto, pequenos pontos circulares, que pela doença não haviam sido invadidos. Na parte média desse espaço, delimitado pelas duas linhas supracitadas, notava mais ou menos umas 10 pequenas placas que se evidenciavam pelo contraste entre ellas e a pelle san; as primeiras escuras ou melhor café com leite e a outra mais ou menos branca. Acima daquelle espaço notava-se a mesma confluencia das placas, e certos pontos poupados pelo parasito. Na parte anterior do thorax observa-se a mesma generalização que invadia quasi inteiramente a pelle.

Nos braços mãos tambem encontramos as placas ora confluidas, ora insuladas, o mesmo acontecendo nas nadegas, na região inguino-crural, e nas pernas.

Ha 2 annos mais ou menos iniciou-se esta molestia no paciente, que refere o seu apparecimento logo após umas oito injecções mercuriaes. Deste tempo para cá ellas tem augmentado progressivamente, não havendo dellas tratado o paciente e que sente grande comichão, não sentindo dôres porém.

Observação n. 4.

—19 annos, solteiro, lavrador, brasileiro, Maltozinhos.

Lepra, tuberculose generalisada, nervos cubitaes grossos e indolores. Palpebras tumefeitas. O exame microscopico e muco nasal revelou a presença de bacillos com os caracteres dos de Hansen. Anesthesia do lobulo da orelha esquerda.

Anamnese—Pae morto por pertubação cardiaca. Mãe forte. Tem 6 filhos todos vivos e sadios. Não faz referencia a nenhuma outra molestia.

Ha 6 mezes appareceram-lhe manchas no pescoço e em seguida estenderam-se para o peito, costas, braços.

No pescoço nota-se a presença de manchas esbranquiçadas nitidamente mais claras que a coloração de pelle normal circumvisinha, principalmente nas partes lateraes e posterior. No thorax, na parte posterior, numa zona comprehendida entre as duas linhas axillares posteriores e um pouco para baixo da cintura, nota-se a presença das mesmas manchas despigmantadas, claras, de contorno caprichoso, circular as mais das vezes, havendo uma superior de maior extensão. No lado direito, ainda nas costas, uma grande placa clara, de contorno irregular e outras pequenas, até o tamanho de uma cabeça de alfinete. No hombro direito uma outra que começa nas costas e vae terminar na parte anterior, abaixo da fosseta infra-clavicular.

Na parte anterior do thorax ha uma grande mancha clara que attinge a quasi totalidade de uma linha horizontal que ligasse as linhas axillares anteriores. Para baixo ha outras, porém menores.

Nos braços as mesmas placas, porém, menores e em pequena quantidade, não attingindo o antebraço. A' raspagem estas lesões esbranquiçadas deixam sair um pó constituido de escamas da ultima camada da epiderme. Com uma pinça fina conseguimos extrair escamas mais extensas onde o exame é mais facilmente feito.

Diagnostico mycologico «Malazezzia furfur».

EPIDERMOPHYTON INGUINALE.

Os casos que entram, sob essa rubrica, para estatistica final, são em numero de 8.

Em 4 obtivemos culturas do cogumelo.

O insucesso da sementeira é devido mais os portadores de lesões, que á deficiencia da technica empregada.

Elle depende da antiguidade das manifestações clinicas objectivas.

As manifestações clinicas, datando de 2 para 3 annos, não fornecem na maioria das vezes, sementeiras positivas.

É preciso ainda lembrar que, os portadores do parasito, quasi sempre submettem as lesões a toda especie de tratamento, já alterando o aspecto clinico, já modificando profundamente a vitalidade do parasito. Sirva de exemplo o caso de localisação pedicular, datando de cerca de 2 annos, no qual apezar de todos os caracteristicos macroscopicos de epidermophycia de origem inguinal não foi possivel obter cultura do cogumelo. A nossa observação nº 3, é, por outro lado, indicativa de um facto a assignalar: a recidiva nesta dermatomycose.

Por pequenos que sejam os residuos da doença, si não radicalmente extirpados, darão logar a que o cogumelo inicie, a breve trecho, nova evolução no mesmo local ou em parte diversa do corpo.

Os fócos infectuosos devem ser bem extinctos. Só assim se ficará livre da doença.

Estas recidivas são, muita vez, a fonte de localisações extranhas do cogumelo.

Ainda não ha muito o Sr. RICHARD S. WEISS tratou, num longo artigo, de um extranho caso de localisação do Epidermophyto. (1)

OBSERVAÇÕES

Observação n. 1.

Nº. 1818. Estudante, 24 de Agosto de 1917.

Ha cerca de 20 dias notou uma leve descamação no fundo da região cruro escrotal esquerda, sem coceira. Notou que pouco antes tratara-se de uns «*Pediculis pubis*» com pomada mercurial, de sorte que attribuia ao mercurio a alteração do revestimento cutaneo da dobra. De oito

---

[1] RICHARD S. WEISS—The Journal of American Medical Association, n, 13, 1917 September, p, 19, V, LXIX,

dias para cá, sente um prurido por vezes bem forte. Na séde referida ha uma placa-pallida no centro, e vermelha na peripheria, nitidamente configurada em arco. A epiderme da parte central da placa acha-se quasi restaurada ao passo que na peripheria, principalmente para dentro do *debrum* rubro, vêm-se micro-vesiculas mui typicas. Nenhuma outra lesão em outros pontos. Nota-se que pela applicação da chrysorobina iodada chloroformica a 1% a vesiculação se torna nitida e vê-se que o *debrum* rubro é todo vesiculoso, o mesmo acontecendo tambem quasi no centro da placa. O doente antes de consultar empregou o nitrato de prata em solução aquosa a 2% sem obter nenhum resultado a não ser uma forte irritação que tornou sua lesão muito nitida, pela coloração avermelhada que tomou.

As escamas preparadas ao lactephenol mostram quasi immediatamente: filamentos mycilianos abundantes, septados, alguns destes apresentando chlamydosporos terminaes e intercalares.

Tratamento — Chryzarobina iodada chloroformica a 1%.

Diagnostico clinico—Eczema marginatum de Hebra.

Nota—As lesões da prega crural é que são as descriptas. As da prega escrotal são quasi invisiveis notando-se apenas as descamações. (Ver photg.).

Exame microscopico—positivo.

Cultura—positiva.

Diagnostico mycologico—Epidermophyton inguinale.

Observação n. 2.

—24 annos, brasileiro, Minas Geraes, residencia Hotel Globo, solteiro, academico de medicina. 23 de Maio de 1917, nº 1639.

Ha mais de um mês notou uma placa pequena na parte superior da face interna da côxa esqueda a pouca distancia do dobra crural. Estendeu-se ella excentricamente. Na parte symetrica da côxa direita, appareceu ha dez dias nova placa. Prurido nullo nas placas da perna, mas no escroto, á esquerda, aonde ha umas placas em inicio, o prurido é notavel.

Diagnostico clinico—Eczema marginatum de Hebra.

Exame microscopico—positivo.

Cultura—positiva.

Diagnostico mycologico—Epidermophyton inguinale.

Observação n. 3.

—24 annos, moreno, solteiro, guarda-civil. Entrada—7 de Maio de 1917. nº 1671.

Anamnese—Já consultou aqui, ha anno e tanto, pela mesma doença. Placas inguino—cruro—escrotaes muito pruriginoosas. Melhorou por occasião da primeira consulta. Não ficou curado e de tempos para cá peorou consideravelmente. Tem contaminados, posteriormente, outros pontos. Estado actual.—Na região inguino—cruro—escrotal esquerda, placas de grandes dimensões erythemato-escamosas, discretamente vesiculosas na peripheria. Estendem-se consideravelmente pela parte superior da face interna da côxa e neste ponto vê-se uma bôa porção central curada. Secreta certa porção de um liquido que devido a fermentação desprende em cheiro enfadonho. Pequenas e minusculas placas em areola, vizinhas. A placa inguino—cruro—escrotal direita tem minimas dimensões. Pequenas placas disseminadas em ambas as regiões gluteas, muito pruriginosas, maximé quando tira a roupa. Na ranhura balano-prepucial, junto o freio, ha certa irritação. Na barba umas placas, aliás discretas. Fez uma applicação de chrysarobina só nas partes pudendas. Esta applicação como era de esperar irritou bastante as lesões. Além das localizações já enumeradas, ha a notar a presença de lesões descamativas, mui pruriginosas nos espaços interdigitaes de ambos os pés.

Tratamento—Oxydo de zinco—4,0 gr.; Boricina—4,0 gr.; Banha benzoica 50,0; isto após a applicação da solução chloroformica de chrysarobina.

Diagnostico clinico—Eczema marginatum de Hebra.

Culturas negativas com o material de região inguinal; positivas com as escamas retiradas nas lesões interdigitaes de pé.

Diagnostico mycologico—Epidermophyton inguinale.

Observação n. 4.

O. N. L.—22 annos, branco, residente em Minas Geraes, rua Carijós, solteiro, estudante, 28 de Agosto de 1917, nº. 1829.

Anamnese—Ha dois mêses mais ou menos notou uma erupção na pelle escroto—inguinal, a principio levemente escamosa, e mais tarde, acredita que por passar sabão e pomada mercurial e de Helmerick, tornou-se francamente rosea, inflammatoria, acarretando um prurido verdadeiramente infernal, principalmente á noite. Clinicamente observa-se na dobra cruro-escrotal esquerda uma dermite rosea, escamosa, de rebordos pouco coloridos em relação ao centro; a dermite escrotal é mais escamosa do que a da folha crural.

Na dobra cruro-escrotal vê-se, do lado da folha crural, uma lesão orbicular de rebordos mais roseos e mais escamosos, levemente microvesiculosos, e do lado da folha escrotal outra lesão orbicular com producções escamosas. Nas lesões da esquerda não se vêm vesiculas, o que se póde evidenciar pelo chloroformio-iodo-chrysarobina. Em ambos os lados dermite traumatica e pequenos furunculos e lesões de folliculite.

Diagnostico clinico—Eczema marginatum de Hebra.

Exame microscopico-positivo.

Diagnostico mycologico—Epidermophyton inguinale.

Observação n. 5.

N. B.—19 annos, branco, Minas Geraes, residente á rua Sapucahy nº 445, solteiro, empregado no commercio; 20 de Fevereiro de 1918, nº 2069.

Ha um anno mais ou menos notou o apparecimento de umas manchas mui pruriginosas no lado esquerdo da côxa correspondente ao sacco escrotal. Estas placas que progrediam com o decorrer do tempo e que se extenderam ás regiões onde actualmente são vistas.

Estado actual—A' esquerda na dobra inguino-crural—grande placa de centro achromico, bordos festonados, roseos e levemente escamosos sendo as escamas adherentes. Placa menor á direita. Placas pubianas dissimuladas sob os pellos. Duas placas na côxa esquerda, circulares. Em nenhuma ha vesiculação effectiva, mas vestigios. Lesões secundarias discretas do tegumento pubiano. Blenorrhagia. Ganglio inguinal esquerdo, interno, de consistencia dura, engurgitado. Não ha cancro duro actual. Já fez tratamento pelo iodo das placas.

Exame microscopico das escamas: positivo.

Diagnostico clinico—Eczema marginatum.

Diagnostico mycologico—Epidermophyton inguinale.

Chamamos attenção para nossa observação nº 3, cuja photographia damos estampada (1).

São publicadas tambem duas outras photographias correspondentes á nossa primeira e quarta observações que vão descriptas.

As culturas do «*E. inguinale*» são, dentre as de Tinhas, aquellas que mais facilmente apresentam o aspecto pléomorphico.

Já SABOURAUD se havia referido,

---

[1] Photographia n. 15 da serie geral.

com justa razão, ao que elle chama «alterações de senilidade» (2).

Ao nosso ver essa questão de pléomorphismo é, talvez, bem mais complexa do que se pensa. Havemos de dizer um dia alguma cousa de mais completo sobre ella. Por ora contentamo-nos em fornecer a presente photographia nº 4 (16a. da serie geral). de cultura obtida por sementeira de escamas da axilla.

A cultura no I (18 da serie geral), têm 10 dias de evolução; a photographia nº 2 (17a. da serie geral), em frasco de Erlenmeyer, onde já se percebe, apesar do grande desenvolvimento da cultura—o inicio tão commum de formas pléomorphicas.

As replantagens repetidas em meios apropriados podem evitar esse inconveniente. Vezes ha, que, com 4 dias de sementeira, nada é possivel divisar no meio de culturas.

A principio a cultura é clara, lanuginosa na peripheria, desenhando-se, a breve trecho, a umbilicação da mesma. Com o posterior desenvolvimento, a cultura de umbilicada, torna-se como que sulcada symetricamente, lembrando a configuração de uma verdadeira cruz de Malta.

O crescimento, porém, do cogumelo, altera este aspecto, para outro—o de verdadeiras dobras ou circumvoluções sem symetria, onde muita vez se assestam os flócos pléomorphicos alvi lanuginosos. (Photographia nº 17 da serie geral).

As radiações peripherica das culturas attingem, no fim de algum tempo, os rebordos internos dos frascos. O pléomorphismo, que se póde apresentar desde os primeiros dias do crescimento, tambem se revela pelo 22º da sementeira do cogumelo. SABOURAUD (1) descreve a cultura do «*E. inguinale*», como tendo, em qualquer epocha que se lhe examine o aspecto, uma côr amarellada, amarello-citrino.

A côr geral e constante das culturas com que trabalhamos, era branco-suja.

Nem por isso nos julgamos com direito de lhe dar o titulo de «especies novas».

Já em capitulo anterior, sobre essa questão de pigmentação, dissemos o nosso modo de encarar o assumpto.

Resta-nos ainda assignalar o exame directo do material humano, para o diagnostico. Sobre tudo predomina o caracter de intenso polymorphismo do cogumelo nos productos humanos.

E' mais uma confirmação daquillo que, com a maestria de sempre affirmára SABOURAUD, (2) em se tratando de diagnostico de especie e differencial.

TRICOPHYTOS.

Occupar-nos-hemos agora de um caso de tricophicia da barba que observamos no serviço de Clinica Dermatologica e syphiligraphica do Prof. ANTONIO ALEIXO. Foi esta para nós, pelo menos, a primeira vez que acompanhamos de perto, um caso de lesão tricophitica, nesta Capital.

Sobre elle diremos o seguinte:

Observação—C. C. com 21 annos de edade, branco, italiano, residente no Matadouro, solteiro, carroceiro, empregado na fabrica de banha existente naquella localidade. Entrou para o serviço em 5 de Maio de 1917 e matriculado sob o nº 1608. Disse o doente que ha 15 dias mais ou menos foi ao barbeiro, e dous dias depois notou uma «*empingem*» do tamanho de uma moeda de cem reis, das actuaes, pruruginosa. A medida que a lesão inicial se desenvolvia notou o

[2) Les Teignes. [Masson et Compie., Editeur]. Sabouraud. Paris, pag. 442, 1910.

[1] Ob. cit. pag. 442.
(2) Ob. cit. pag. 438—439.

paciente, após tres dias, o apparecimento de novas. A placa primitiva era um pouco dolorosa. Symptomalogia actual: Apresenta actualmente uma placa de 6 cm. (diametro antero-posterior) sobre 5 cms. (diametro vertical) na proximidade da região parotidiana direita. Esta placa é erythmato-pustulo-crostacea com a forma de dous circulos confluentes. As pustulas e as crostas são mais numerosas na parte central, aonde parece ter havido uma repullulação. A peripheria é nitidamente marcada por uma epiderme finamente descollada. Os cabellos macroscopicamente não parecem attingidos Não se vê alopecia nas immediações. Vêm-se apenas pequenas e minusculas placas mais escamosas que vesiculosas. Na região retro-auricular vê-se uma placa em ponto maior. Na região nasogeniana uma placa de 2 cms. de diametro, approximadamente, de forma annular, com a zona central integra. As lesões da peripheria são descontinuas.

A placa principal, após a primeira sessão de raios X, durante 10 minutos, tornou-se elevada, manifestando-se um processo suppurativo subdermico. Houve perda de muita materia pultacea.

EXAME MICROSCOPICO

O exame microscopico do material retirado nas lesões revelou a presença, nos pelos, de um tricophyto ectothrix, de grandes esporos, cujas filas pouco distinctas formavam a quasi totalidade da bainha em a qual se achava o pelo envolvido. Os pelos, quando epilados, quebravam-se profundamente, acarretando, porém, a propria bainha que era espessa e alvacenta.

Havia esporos de grandes dimensões e alguns rosarios de esporos mais ou menos regulares. Os pelos examinados mostravam approximadamente aquelle aspecto da figura 178 de *T. equineum* «*Matruchot*»-autour du poil e dans le poil humains, pga. 250. Les Teignes. par L. SABOURAUD, 1910, Paris.

CULTURAS

Em Sabouraud Maltosado e Glycosado e com rapadura, culturas muito semelhantes ao do «*Tr. cerebriforme*» e, outras vezes, semelhantes ao «*Tr. asteroides*». Em batatas simples e glycerinada cultura humida de um amarellado «*ócre*».

Actualmente no replantio em Sabouraud Glycosado com material retirado de uma de nossas culturas obtivemos uma fórma desse cogumelo que se assemelhava ao *Tr. efractum*, o que mais uma vez demonstra a variabilidade dos aspectos exteriores e, pois, a difficuldade do diagnostico macroscopico nos meios de cultura usuaes.

O exame das culturas, isto é, de fragmentos e dissociados em lactophenol deixou-nos ver mycelios ora largos, ora medios, septados em curtos segmentos, alguns lembrando-nos o mycelio em raqueta dos microsporos; chlamydospóros intercalares e terminaes e conidias.

Pela disposição do parasito nos pelos e sua cultura caracteristica na batata conseguimos classificar o nosso parasito. Trata-se sem duvida do *Tr. equinum* (Matruchot e Dassonville). Isso nos foi ainda mais facil classificar pelo seguinte facto.

Quando ainda em tratamento, o paciente notou determinadas lesões nos pelos dos animaes com os quaes lidava.

Tivemos a felicidade em ver «*de visu*» os animaes com as referidas lesões.

Estas podiam ser enquadradas numa tinha tonsurante typica.

O barbeiro estava pois livre de «culpa e pena», que a ignorancia da verdadeira origem animal da doença mycotica, lhe havia lançado aos hombros.

Addicionamos a esta pequena observação—uma photographia da cultura do parasito em Sabouraud Glycosado. (19 dias de sementeira.) Photographia nº 1.

MICROSPORIAS

Durante o anno de 1917 e alguns mezes de 1918 e outros tantos de 1919 a 1920 occorreu-nos a opportunidade de observar, além dos casos de Esporotrichoses e Favos outras mycoses, algumas causadas por Microsporos.

Desde já, todavia, salientaremos as difficuldades nas quaes incidimos, quando iniciamos estes estudos.

Referimo-nos á carencia de maltose bruta, tão necessaria ao cultivo destes cryptogamos.

O material por nós examinado, era constituido, não só pelos cabellos retirados de placas tonsurantes microscopicas e suas escamas quando a lesão se assestava no couro cabelludo, como tambem de escamas epidermicas retiradas nas placas erythemato—escamosas indicadoras da inoculação do Dermatophyto ao nivel do revestimento cutaneo.

Para isso empregavamos commummente o lactophenol de AMANN, liquido optimo, a nosso vêr, para essa sorte de exame. Raramente empregavamos a coloração, e, quando della lançavamos mão, faziamol-o pela technica de BIZZOZERO e FIRKET. Além disso empregamos ainda a potassa caustica a 40% com subsequente aquecimento.

O lactophenol de AMANN não só conserva muito bem as preparações, como tambem (o que de uma maneira facil póde ser verificado) torna-as claras, de exame facil, devido á bôa e nitida differenciação do Dermatophyto. Seria de grande conveniencia que se procurasse um «*lut*» menos diffusivo neste liquido. O que empregamos, mistura de cêra de abelhas, breu e colophana, no fim de certo tempo, diffundindo-se no liquido conservador, obscurece as preparações tornando seu exame difficil, senão inexequivel. Deve-se proseguir nos estudos para esse lado da technica mycologica. Não será facil sanar esta lacuna embora nos parece achar-se já meio encaminhado, pelo emprego de um novo *lut* de lanolina e colophana, e que deve ser menos friavel e diffusivo que o de Krönig.

Os meios de culturas empregados foram: os glycosado e maltosado de SABOURAUD, a batata e o meio de SABOURAUD com rapadura.

Neste ultimo, entretanto, não é difficil apparecerem as formas pleomorphicas, que tanto desanimam aquelles que a estes estudos se dedicam.

Logo após a epilação tinhamos o cuidado de effectuar o exame dos pelos.

A technica para isto empregada era a seguinte:

1)—Epilação: empregavamos a pinça de epilar. Com esta retiravamos pelos da porção central da lesão ou da placa microsporica, e de sua porção periphe. rica, isto é, nos bordos.

2)—Em seguida collocavamos os pelos retirados entre duas laminas de vidro, previamente lavadas e esterilizadas a chamma do alcool. Elles ahi permaneciam até que o exame fosse effectuado.

As escamas eram retiradas por simples raspagem com o bisturi, e collocadas da mesma forma, entre laminas, até o exame ulterior.

O aspecto destes cabellos quando retirados á pinça ou com o auxilio das unhas é muito caracteristico, e a sua descripção não merece occupar nossa attenção mais particularmente. Para isto reportamo-nos á descripção dada por SABOURAUD, ás paginas 147 e 148, (1) Nem sempre conseguimos facilmente obter um fio de cabello pois os mesmos partem-se com a maior facilidade. Quando se consegue retirar um pelo, quasi sempre vem desprovido de sua parte bulbar.

Este facto não é novo e SABOU-

---

[1] Les Teignes, ob. cit. de 1910.

RAUD descreveu-o minuciosamente na sua obra referida.

Por precaução, collocavamos numa mesma preparação microscopica diversos fragmentos de pelo. Dest'arte era possivel numa unica lamina acompanhar a distribuição do parasito em toda a extensão do mesmo.

Collocados nas laminas—tres ou quatro fragmentos de pelos, completos ou não, juntavamos algumas gottas de liquido de AMANN. Aqueciamos estes ligeiramente, e, expellidas com o possivel cuidado as bolhas de ar, fechavamos a preparação com uma laminula.

A technica das preparações pela potassa, das colorações, etc., são de sobejo conhecidas para nellas nos determos.

CASOS OBSERVADOS

Do mês de fevereiro de 1917 até hoje—outubro de 1920—tivemos opportunidade de estudar 24 casos de microsporias assim discriminados:

18 por M. Lanosum.
5 por M. Audouini.
1 por M. felineum.

CULTURAS

Constituem motivo de demoradas pesquisas, muita vez, as culturas destes cogumelos.

E' impossivel, não raro, identificar, o microsporo sómente pelo exame directo.

Quando estes cryptogamos se assestam nas partes glabras as culturas são, de regra, que decidem a questão.

Foi o que tentamos, com bons resultados, apesar das difficuldades já referidas.

As sementeiras eram feitas em frascos de Erlenmeyer e observadas, com particular cuidado, diariamente.

Do registo destas observações podemos tirar as seguintes conclusões:

1)—a cultura attinge no 3º para o 4º dia a um desenvolvimento digno de nota:

2)—o crescimento maximo é alcançado entre o 15º e o 25º dia de sementeira (6 cent. a 14 cent. em media).

Estas deduções foram obtidas no meio de SABOURAUD maltosado (classico). Chega-se, todavia, aos mesmos resultados nos meios de SABOURAUD com glycose e com rapadura.

As culturas do «*M. lanosum*», quando semeadas neste ultimo meio, não apresentam formas pleomorphicas, si tivermos o cuidado de replantal-as de 15 a 20 dias no maximo.

A formação do pigmento, não é rara, por estes cryptogamos.

No «*M. lanosum*» notamos, em certas occasiões, uma pigmentação rosea, ás vezes branco sujo.

Nas culturas do «*M. Audouini*» a pigmentação cinzenta, em seguida castanha amarellada semelhante á côr da cenora, e que mais caracteristica se torna na batata.

Este caracter porém, não nos cansamos de repetir, é um dos mais inconstantes das culturas, não só dos Hyphomycetos como de qualquer cogumelo.

Os pléomorphismos culturaes são communissimos, apesar de grandes precauções para os evitar.

Sempre que fôr possivel devemos lançar mão de todas as technicas e de todos os exames cabiveis para identificação dos microsporos. A pratica prolongada destes cogumelos é que nos dita uma tal opinião.

Sempre que fôr possivel, tambem lançar mão dos meios «classicos» para evitar causas de erro.

Respeito a vivacidade das culturas nada digno de nota nos foi possivel verificar.

Para nós tão depressa se desenvolvia o «*M. Lanosum*» como o *M. audouini*».

O facto em contrario, verificado por SABOURAUD, corre por conta certa-

mente de condições athmosphericas outras (hygrometricas e thermogenicas— por exemplo).

Aqui, em Bello-Horizonte, mórmente durante o tempo que observamos, a temperatura variava geralmente pouco.

Estas oscillações são mesmos insignificantes si as compararmos com as do Velho Mundo.

Dahi talvez, embora mais ainda do que a altitude, pouca influencia tenha a temperatura no desenvolvimento dos Arhyzophytos.

A influencia que a altitude podesse ter no desenvolvimento dos cogumelos, e principalmente nos dos parasitos, é cousa de ha muito indagada. Recentemente num estudo de phytopathologia J. DUFRENOY (1) estudou com particulares pormenores comparativos os parasitos das altitudes e das planicies.

A molestia (o parasitismo) existe em toda altitude com a mesma intensidade, contanto que exista o «hospede» tal foi a conclusão maxima do autor.

Mais, todavia, que as condições athmosphericas ou que a altitude, parece ter alguma influencia sobre certos cogumelos parasitos a acção benefica da civilização. Os grandes centros são pobres de affecções mycoticas. Os centros ruraes, a vida campesina fornecem grande copia dellas.

Foi isso, como um exemplo flagrante, numa das muitas licções eloquentes, nos forneceu a «Grande Guerra».

Individuos indemnes até então de lesões mycoticas, pelo meio de vida que levavam, uma vez submettidos á dura prova da vida das trincheiras, num constante e perene contacto a Terra, com a Natureza, apresentaram-se infestados por numerosos cogumelos (2) (3) (4).

Destes assumptos, porém, mais tarde, talvez nos seja possivel dizer com mais vagar e largueza.

Nossas culturas foram sempre conservadas á temperatura ambiente, não sendo necessario recorrer a estufa, (não só com as do Microsporos como as dos demais cogumelos).

Quanto ao aspecto morphologico das culturas será precizo accrescentar alguma cousa. Vejamos por exemplo as culturas do «*M. Audouini*».

Nos primeiros dias as culturas em meio maltosado de SABOURAND, sem lanugem, são de um branco puro e quanto mais velha se torna a cultura, esse frouxel parece-nos mais compacto e curto, colorindo-se de um branco menos puro, de um branco acinzentado. Ao mesmo tempo que o seu desenvolvimento progride, 3 ou 4 sulcos dividem cultura em outras tantas zonas. Quando ella envelhece novos sulcos intercallares apparecem, com menores dimensões, donde provém a formação de novas zonas. Como se vê é a cultura classica do «*M. Audouini*». Para maior comprehensão transportamo-nos ás photographias dos nossos casos-numeros: 1672, 1671, e 1730 ou melhor, numeros 22, 23, 24 para maior facilidade, respectivamente.

Quanto ás culturas do «*M. lanosum*, no que diz respeito ao aspecto, nada temos a acrescentar. O centro da cultura é umbilicado. O anel lanoso fórma ao redor dessa umbilicação um relevo saliente, de um branco muito puro, que se amarellece á medida que a cultura vae envelhecendo. A peripheria della é formada por um congglomerato de raios immersos. Ha por sobre tudo uma lanugem fina e acinzentada. (Isso no meio maltosado de SABOURAUD). No meio glycosado a cultura é tambem lanosa, porém irregularmente, e não segundo um annel como no meio maltosado. (Vêr photographias numerosas 26, 27, e 28 que completam melhor esta descripção). Na figura nº 25 podemos vêr

[1] J. DUFRENOY: Bouletin Trimes de la. Société de Mycologie de France, T. XXXIV, 1918 pag. 8.
[2] Tuffier pp. Annal. Société de Chirurgie. 13 Jnnho de 1917.
[3] E. Antoine, Annales de l'Institut Pasteur, Paris, Mai 1911, n. 4, pag. 202.
[4] Ronger et Pellirsier—Annales de l'Institut Pasteur 1915, novembre.

uma fórma pléomorphica deste microsporo.

EXAME MICROSCOPICO DAS CULTURAS.

Este exame foi effectuado pelos seguintes processos:

1)—Em gotta pendente, em cellula de BOETCHER;

2)—Em fragmentos de culturas dissociadas em lactophenol de AMANN;

3)—Após fixação dos esfregaços de culturas coradas pelo GIEMSA e GRAM;

4)—Nas paredes dos tubos.

O 4º processo, em geral, substitue o 1º cuja technica é mais delicada e que necessita muito cuidado para que sejam evitadas as contaminações. Approveitando assim o tempo podemos com muita facilidade verificar a disposição das hyphas.

Para isso nada mais facil: é só collocarmos o tubo que foi semeado com o material sob a objectiva do microscopico. A focalisação não é difficil.

As occulares compensadoras 8, 12 ou 18 de ZEISS e a objectiva secca B do mesmo auctor prestam-se a taes serviços. Lançando mão desses processos verificamos os filamentos estereis divergentes, os esboços de fusos ou dilatações em massa, de superficie mais ou menos granulosa, raros. Nas gottas pendentes verificamos uma zona media, trazendo filamentos erectos levemente fusiformes em sua extremidade, uma zona peripherica constituida por filamentos radiados, rasteiros e estereis, e uma zona central aonde observamos pequenas hyphas erectas provindo de conidios piriformes, frageis e caducos. Em summa para o «*M. Audouini*» em gotta pendente, ao qual se refere a descripção supra, nada mais observamos que SABOURAUD. Este mesmo hyphomyceto observado pelo 2º processo e com maior augmento (object. E. secca e oc. comp, 4 ou 8) mostra-nos além dos orgãos fusiformes repletos de granulações, sem loculos, as differentes formas do mycelio, isto é, rectilinio, em raqueta, hyphas esporipheras com conidios externos, com ramificações lateraes e bifurcações, e hyphas esporiferos inferteis. Ha tambem Chlamydosporos. Além disto vemos, com muita nitidez, os hyphas pectineos nestas preparações.

Nas culturas do «*M. Lanosum*» em gotta pendente observamos o seguinte: parte central compacta donde sahem numerosos filamentos mycelianos rasteiros mais ou menos rectilineos. Esta parte central é formada de mycelio compacto, trazendo em pediculos delicados e curvos grande quantidade de fusos perfeitamente observaveis com fraco augmento. Com maior augmento o aspecto da cultura é mais attrahente, com os mycelios septados, rectilineos, grandes e pequenos fusos numerosissimos, semelhantes a folhas e variaveis em suas dimensões e numero de loculos. Em fragmentos de cultura dissociados no lactophenol, observamos além do que atraz ficou referido, os chlamydosporos intercallares, as vezes terminaes e thyrsos esporiferos.

Em certas culturas, como por exemplo, no caso nº 1943, os thyrsos esporiferos eram mais numerosos que os fusos, facto este que está em desaccordo com SABOURAND quando disse: «*Les fuseaux sont bien plus nombreux dans les cultures que les thyrses sporiféres*». (1)

Observamos que, certos fusos, quando vistos de cima para baixo, isto é, quando suas extremidades soffrem uma approximação apparente, tomam uma forma espherica, achatada nos pólos, assemelhando-se a uma cellula blastomycetica, cheia de granulações, desapparecendo as loculações. (Ver preparação da cultura proveniente do caso B. P.).

---

[1] Les Teignes—ob. cit· pag, 678, 1910.

LOCALISAÇÃO DAS LESÕES MICROSPORICAS.

De accordo com as nossas observações podemos dividil-a summariamente de seguinte modo:

1)—Localisação no couro cabelludo;
2)—Localisação na pelle glabra;
3)—Localisação ao mesmo tempo no couro cabelludo e na pelle glabra ou typo de localisação mixta.

Na barba e no bigode não conseguimos observar nem um caso. O 1º typo o mais communente observado é a tonsurante microsporica. Clinicamente não nos foi possivel differenciar si uma tonsurante era causada pelo «*M. audouini*» ou por «*M. lanosum*». As lesões constam de placas pequenas, medias, e ás vezes bem extensas, cobertas de escamas acinzentadas com poucos ou sem cabellos sãos em sua superficie. Os cabellos quando existem são quebradiços, cinzentos, cobertos por uma bainha. O aspecto é caracteristico.

Em alguns casos as placas são acompanhadas de rubefação e de irritação das partes circumvisinhas. Outras apresentavam grande numero de pequenas placas espalhadas em maior ou menor extensão do couro cabelludo.

Os casos em que os phenomenos de irritação eram bem visiveis e perceptiveis datavam já de algum tempo.

De accordo com SABOURAUD podemos dividir a evolução destas lesões em dois periodos. Um primeiro, caracterizado pelo apparecimento das manchas microsporicas, e um segundo no qual apparecem ou sobrevêm os phenomenos inflammatorios.

As placas microsporicas não crescem indefinidamente. Chegando a um certo ponto detêm seu desenvolvimento e attingem no maximo ás dimensões de uma moeda das de dois mil reis. E' raro nesta localisação verificarmos sómente uma placa; quasi sempre são em numero de duas, tres e mais, (Vêr photographias nº 29, 30, 31 e 32, e ver observações nº 1 e 1—A).

Dada a natureza do trabalho não convêm aqui descrever com maiores pormenores estas lesões.

2) Localisação da pelle glabra. Esta localisação aqui em Bello-Horizonte é das mais communs. Apresentam-se as lesões sob a fórma de placas erythemato-escamosas, não pruriginosas ou muito pouco, orbiculares, circulares, ás vezes polyciclicas, cercadas por uma orla ou moldura avermelhada, escamosa, centro geiramente perfurado com escamas adherentes.

Sómente com esta localisação na superficie glabra podemos apresentar as seguintes observações verificadas quanto ao microsporo pelo exame microscopico e cultural.

OBSERVAÇÕES

G. P.—matriculada na Policlinica em 17—V—918, brasileira, residente em Bello-Horizonte, escolar. (Observação nº 2).

Antecedentes familiares (vêr observação nº 3, da qual esta doente é irman). Quanto ás pessoas têm que se referir a diversas affecções intestinaes. Actualmente, notou ha cinco dias, uma «impingem» no pescoço a esquerda, já quasi curada, depois, no mesmo lado, na nuca, uma outra placa. Ao exame revela na nuca uma placa erythemato-escamosa, pruriginosa. Da placa original, não ha vestigios.

Diagnostico trochophycia (?)—Diagnostico mycologico «*M. Lanosum*».

Observação nº 3.

B. P.—17—VI—918, 8 annos incompletos, branca, mineira, residente em Bello-Horizonte, no bairro das V. de S. Vicente, escolar. Teve blenorrhagia e syphilis.

Antecedentes pessoaes—Soffreu ab-

cessos, inflammações na pelle, affeções intestinaes.

Historia da molestia actual—ha cinco diuas sua mãe notou uma «empingem» no hombro direito e tres nas pernas. Rapidamente essas lesões se multiplicaram. Pesquisando a origem dessas manifestações é digno de nota a affirmação de que na visinhança havia um gato doente, e, em sua propria casa, um outro que já se apresentava com lesões cutaneas.

Symptomatologia actual—No hombro direito uma placa orbicular de cerca de 2 cms., erythemato escamosa.

Nas duas coxas varias placas egualmente orbiculares, muito nitidas, cuja peripheria mostra uma moldura tambem erythemato escamosa. Em algumas placas nota-se um ponto central tambem erythemato escamoso. Prurido não muito consideravel.

Diagnostico clinico-trichophycia (?).

Diagnostico mycologico—«*M. lanosum*».

Nesta e na observação precedente a origem da microsporia é, com as maiores probabilidades, animal. Previnha neste caso o cogumelo dos gatos, tanto da casa dos doentes, como da visinhança. Havia um outro doente nas proximidades destes, que tivemos tambem occasião de observar e cujo aspecto clinico era perfeitamente identico aos já descriptos. (As doentes das observações 2 e 3 são irmans).

Observação nº 4.

S. de P.—um anno e quatro mêses, branco, Bello-Horizonte, Barróca, 14—XI—917, nº 1946. Ha poucos dias appareceu uma «empingem» no braço esquerdo. Em sua casa um homem e um menino tambem tiveram «empingens». O pequeno não sente prurido algum.

Na face posterior do antebraço esquerdo placa circular de 2 centimetros de diametro, de progressão excentrica, vendo-se a peripheria marcada em varios trechos por producções vesiculares e na porção central a pelle é normal. A placa é pois perfeitamente anular, notando-se um anel levemente roseo, levemente escamoso e vesiculoso. Nada foi encontrado em outras partes, mesmo na cabeça.

Diagnostico clinico-Trychophycia (?).

Diagnostico mycologico—«*M. lanosum*».

Observação nº 5.

M. de C., 1 anno e 7 mêses. Brasileiro. Bello-Horizonte. Ha 15 dias appareceu-lhe uma «empingem» no rosto, com alguma coceira. Em seguida appareceram-lhe no thorax e nos braços lesões semelhantes, bastante pruriginosas. Acredita que sua dermatose originou-se de um gato muito magro, que lá appareceu, coberto de placas de alopecia. Na face, especialmente á direita, placas, algumas minusculas, pontilhadas, escamosas; outras maiores, de rebordo circular, escamoso, insulando um centro de pelle quasi sã, mais opaca. As maiores teriam as dimensões de um botão de camisa. Algumas ha circinadas nas quaes a circumferencia tem solução de continuidade. Ao nivel da face anteriro da região do cotovello efflorescencia papulosa, com uma dimensão de 5 cms., de rebordo espesso e centro escamoso deprimido. No braço direito ha tres placas. No esquerdo ha uma e uma pontuação. No dorso vêm-se bastantes com a fórma de acné. Nada no couro cabelludo. Nas commissuras pequenas placas de «perleche» provavel. Não são encontrados nem estygmas de lues nem antecedentes evidentes nesta molestia. Não ha vesiculação nitida.

Diagnostico clinico-Trichophycia (?).

Diagnostico mycologico— «*M. lanosum*».

Observação nº 6.

—3 annos, branco, brasileiro,

Bello-Horizonte. R. Curituba, Nº 763, 27—IV—918, nº 2156.

Ha oito dias appareceu uma placa no braço esquerdo, pruriginosa. Esta pequena vivia brincando com o doentinho nº 2155 da observação precedente. Não se sabe todavia, si o contagio foi de homem a homem ou de animal a homem. Esta creança tambem brincava com o gato já referido na observação nº 5. Os paes deste pequeno são sadios o mesmo acontecendo com o paciente. O pequeno apresenta apenas uma placa muito nitida circular ao nivel do braço esquerdo.

O centro da placa é escamoso, mas sem escamas destacadas, opaco, pregueado, limitado por uma circumferencia de escamas adherentes, fóra da qual se vê um debrum circumferencial roseo, levemente levantado e caindo do centro sobre o plano cutaneo. E talvez, de um millimetro o nivel da espessura daquelle.

Diagnostico clinico-Trichophycia (?).

Diagnostico mycologico—«*M. lanosum*».

Destas observações podemos concluir que as localisações ao nivel da superficie cutanea, glabra, não são pouco numerosas. Quanto á origem é muito provavel a animal, principalmente de gatos, como podemos verificar pelas observações ns. 2, 3, 5, e 6. O contagio de homem para homem e para outras pessoas fica provado pela observação nº 4. O contagio do animal para o homem tambem póde ser verificado pelas observações nº 2, 3, 5 e 6.

O 3º typo, isto é, o typo mixto, podemos observal-o facilmente, lançando um simples olhar para as photographias nº 33, 34, 35. Na nº 13 podemos observar as lesões microsporicas existentes no couro cabelludo, na região occipital e nas de nº 14 e 12 notam-se nitidamente as lesões da superficie cutanea.

Deste typo daremos as seguintes observações:

Observação nº 7—(Photographias nº 33, 34 e 35).

Ant. Alc., 5 annos, pardo, Rua Januaria, nº 1730. Brasileiro. Na escola não consta haver dessa doença. Adoeceu antes dos outros. Em Abril notou uma coceira no mento e com ella appareceu uma mancha que se tornou avermelhada, multiplicando-se então a lesão por todo o corpo, sendo a do couro cabelludo mais recente. Diz que as placas eram a principio vermelhas. Trata-se ultimamente com um preparado de alcool camphorado, receitado por um estudante de Medicina.

Na testa apresenta o doente uma grande placa, sobre o supercilio direito e outra menos apagada sobre o esquerdo. Na face ha varias outras. No corpo, na perna e braços—varias placas.

Na região occipital, á direita, uma placa de 2 cms. de diam., vendo-se os cabellos cortados rentes ou curtos. Muitos fragmentos destes pelos mostram a bainha caracteristica. Producção de pequenas escamas cinzentas. Nas partes glabras não é facil dizer que os pelos são cortados mas observa-se uma descamação fina como que follicular. A placa da cabeça não tem cheiro. Os cabellos partidos são faceis de epilar. Os da peripheria compridos.

Diagnostico clinico-Microsporia.

Diagnostico mycologico-«*M. audouini*».

Observação nº 8—J. de L.—9 annos, moreno, Estado de Minas, Bello-Horizonte, residente na «Floresta», nº 240, não escolar, 28—II—917, nº 1298.

Ha dois mezes e tanto notou uma placa no pescoço muito pruriginosa, seguida de outras na face e no couro cabelludo. Diz a mãe do pequeno que o mesmo já veio doente de Ponte Nova, de onde é natural. Diz que, ha tempos, em Poonte Nova dous irmãosinhos tiveram a mesma doença, sarando com pouca cousa. Diz mais que na «fazenda»

aonde se achava havia muitas pessoas com essas «impingens». Prurido intenso. O pequeno é muito fraquinho, anemico. Na face e no pescoço vêm-se placas circulares ou ovaes, pseudo-achromicas pelo despolimento occasionado pela fina descamação. Na cabeça placas de alopecia de cerca de 2 cm., circulares, vendo-se pelos seccionados na base.

A mãe teve um só aborto. Nas placas de alopecia ha abundantes producções escamosas e vesiculosas. As placas da face e do pescoço têm em certos pontos escamas visiveis. Nestas placas os pelos subsistem actualmente. Colheu-se material para exame directo e cultural.

Diagnostico clinico-tinha tonsurante.

Diagnostico mycologico—«*M. lanosum*».

Observação nº 9—C. S. 5 annos de edade, côr branca, Minas Geraes, Bello-Horizonte, alumno do Jardim da Infancia, entrou para serviço em 13—4—917, sob o nº 1681.

Ha cerca de dois mezes notou varias placas na cabeça que foram tratadas por varios remedios prescriptos por pharmaceuticos, não melhorando. Não sente prurido, dôr ou phenomenos geraes. Actualmente apresenta uma placa circular de 3 cms. de diametro na região fronto-parietal esquerda, com limimites nitidos, salientes, cabellos partidos, curtos e providos de bainha caracteristica, facilmente retiraveis á pinça, cobertos com escamas cinzentas esbranquiçadas. Esta placa acha-se inflammada, cremos que pelos tratamentos, havendo tendencia á vesiculação. Ha outra placa minima no vertice e outra ainda menor na região occipital. Apresenta ainda uma outra placa na parte glabra da nuca. Na face e nas maçãs do rosto, placas suspeitas escamosas (ver phot. nº 10 da lesão do couro cabelludo).

Diagnostico clinico-Tinha tonsurante.

Diagnostico mycologico «*M. Audouini*».

São estas as observações mais nitidas desse typo mixto que desejavamos transcrever. As observações ns. 7 e 9 são devidas ao «*Microsporo Audouini*» o que foi comprovado pelas culturas obtidas, seu exame em gotta pendente e pelo exame dos cabellos e escamas.

Como se vê das observações até agora examinadas, ora as lesões microsporicas são pruriginosas, ora não.

Devemos concluir neste ponto de uma maneira eclectica. Procuraremos agora transcrever algumas observações de typo nº 1, isto é, das lesões sómente localisadas no couro cabelludo.

Observação nº 10—J. 5 1/2 annos de edade, Minas Geraes, Bello-Horizonte, escola infantil. Entrada no serviço em 13—6—917 sob o nº 1682.

Ha mais de 2 mezes e 15 dias foi notada uma placa no vertex sem prurido, nem côr particular. Tratou-se com um pharmaceutico, sem resultado. Actualmente, no vertex, ha uma placa escamosa de 3,5 cms. × 3 cms., cabellos curtos, cortados rentes. Placa pouco saliente. Cerca de 10 placas de todas as dimensões, disseminadas pelo couro cabelludo, frequentemente mal delimitadas.

Diagnostico clinico—«Tinha microsporica».

Diagnostico mycologico—«*M. Audouini*».

Observação nº 11—R. J. 5 annos, côr branca, Minas Geraes, Bello-Horizonte, residente á Rua dos Cahetés, (em barracões existentes nesta rua) nº 1672.

Ha tres dias sua avó (por estar sua mãe internada na Inf. com pemphigo folliaceo) notou uma corôa na cabeça da netinha, não podendo dizer precisamente, quando appareceu. Affirma, contudo, que isto se deu, ha um mez para cá. A pequena não pode informar se coça ou não. E' facil concluir que, si prurido existe, não é muito intenso. Não soffreu nem soffre outras doenças. Um

seu irmão morreu de queimaduras. Placa rigorosamente circular de cerca de 2 cms., mostrando em quasi sua totalidade os cabellos cortados de um cm. a 0,005 mm. s. Muitos fragmentos são dissimulados sob as numerosas escamas que cobrem a superficie da tonsura. As escamas são acinzentadas. Esta placa é no vertex. Pequena e minuscula placa dissimulada sob os cabellos da região occipital. Este doente tem um irmãozinho matriculado no serviço sob o n. 1671 com a mesma molestia com semelhante localisação (observação nº 12 que achamos inutil transcrever).

Diagnostico clinico—Tinha tonsurante.

Diagnostico mycologico—« *M. Audouini*».

Observação nº 12—6 annos, morena, Minas Geraes, Bello-Horizonte, R. dos O. 12—11—917, sob nº 1943.

Ha um mez, mais ou menos, que soffre de uma molestia no couro cabelludo. Actualmente placas muito numerosas, sem forma nitida. Notam-se placas de alopecia, não se vendo os cabellos cortados curtos, mas quando retirados á pinça deixam ver a bainha caracteristica.

Diagnostico clinico—Microsporia.

Diagnostico mycologico—«*M. lanosum*».

Observação nº 13—O. M., 8 annos, moreno, Minas Geraes, Bello-Horizonte, residente a R. de Ramal, não escolar.

Entrou para o serviço em 26 de Abril de 19917, sob o nº 1692.

Ha bastante tempo que lhe appareceu na cabeça uma «empingem» branca, pruriginosa, na qual os cabellos começaram a cahir. Nota-se uma placa cujos cabellos são cortados rentes, na região temporal direita. Não tem cheiro especial. Esta placa é recoberta por escamas cinzentas facilmente destacaveis. A placa é circular e de 2 centimetros mais ou menos de diametro. O doente ainda sente muito prurido.

Diagnostico clinico—Microsporia.

Diagnostico mycologico—«*M. lanosum*».

Este doente é irmão do matriculado no serviço de Cl. Dermat. e syphil. sob o nº 1942. Sua observação é a de nº 14, que deixamos de transcrever.

Observação nº 15—M. M.—moreno, brasileiro, residente em Bello-Horizonte, R. Pouso Alegre, escolar.

Entrada no serviço em 31—12 917, sob o nº 1995.

Ha um mez mais ou menos notou o paciente que os pelos da cabeça começavam a cahir em um um determinado ponto. Ha poucos dias notou que novos fócos (2) se formavam. A pelle nestes logares se acha espessada e coberta de escamas. Existem alguns fios de cabello, nestas falhas perfeitamente circumscriptas. Cabellos cortados rente, com bainha caracteristica. Não ha cheiro particular.

Diagnostico clinico—Microsporia.

Diagnostico mycologico—«*M. lanosum*».

Além destes casos dos quaes apresentamos agora as observações mais ou menos completas, obtivemos culturas de *M. Lanosum*, e exames microscopicos positivos para os casos nº 16 (J. H. M.) ao qual nos reportamos na photographia nº 8, e no qual pela primeira vez notamos um cheiro particular, semelhante a «cheiro de ninho de rato», que quasi sempre se observa nos individuos atacados de «favus», (Achorium Schoénleinii); nos numeros 17, J. L. M., irmão do precedente (nº 16) e no nº 18. (C. R. M.) irmão por sua vez do precedente, tambem obtivemos cultura de «*M. Lanosum*».

Na casa destes tres ultimos doentes houve uma verdadeira epidemia familiar.

As observações destes casos acham-se registradas no livro da Polyclinica Dermat. e syph. (Prof. A. ALEIXO).

EXAME MICROSCOPICO DOS CABELLOS E ESCAMAS

O exame microscopico das escamas deve ser precoce para que maiores sejam os resultados de exito. Nas lesões mais recentes, affirmamos, é sempre facil revelar o parasito. Noutras mais ou menos antigas são todavia, necessarios reiterados exames. A' vezes, mesmo assim, deparamos sómente um pequeno filamento myceliano, e na maior parte dellas depois de repetirmos os exames, uma, duas e tres e mais vezes, o resultado é negativo. E lá se vae mais um resultado negativo em material proveniente de lesões que estamos fartos de saber que são por elles provocados. Quanto a technica para este exame não mais nos referiremos a ella: é de sobejo conhecida e applicada diariamente nesta casta de exames. Mais ume vez asseguramos que os exames microscopicos devem ser feitos pouco depois de prompta a preparação. O *lut* ainda agora usado deixa muito a desejar, e si no fim de algum tempo, fomos examinar as nossas preparações vemos que, nellas, o aspecto predominante é o de cabello favico, (as bolhas de ar são muito numerosas). Dahi erros provaveis.

De um modo geral em todos os cabellos examinados notamos o seguinte: abundancia extrema de esporos que ora parecem ectothrix, ora endothrix. A's vezes se dispõem em ilhotas mais ou menos insuladas nas quaes podemos contar uma vintena a uma centena delles. Não raro seis a dez. Os filamentos mycelianos não são sempre nitidos e bem visiveis, mas em certos cabellos notamol-os claramente e é possivel acompanhal-os em uma maior ou menor extensão. A's vezes elles atravessam o pelo e passam para o exterior. Nestes casos podemol-os, examinar pormenorizadamente, principalmente empregando como corante o azul de SAHLI, que, apezar de não ser optimo, é um dos corantes que devemos lançar mão. Notam-se algumas vezes por este processo granulações metacromaticas em seu interior. Os esporos ora são esphericos, globulosos e ovaes, ora são quadrados, losangicos, etc. Essas formas são provocadas pela pressão reciproca que uns exercem sobre os outros. Ora, tambem, são grandes, ora pequenos. Em certos casos obser-se mycelios gigantes tão bem descriptos por SABOURAUD. Em muitos os mycelios não se deixam perceber. A's vezes o cabello fica completamente deformado em suas extremidades, na parte media e junto ao bulho, etc. Vêm-se nos logares em que se dão as fracturas, verdadeiras formações penicillares pilosas. Algumas vezes o pelo conservando mais ou menos a sua estructura, mostra-nos, em certos logares, como que mudando ora gradativamente, ora inesperadamente de espessura. E' raro vermos um pello completamente regular. Nas escamas do couro cabelludo, notamos sempre uma infiltração leucocytaria nitida.

Em alguns cabellos cuja preparação era examinada para logo que terminavamos o fechamento, logramos ver, á semelhança do cabello favico, innumeras bolhas de ar.

Nas escamas das lesões epidermicas, das partes glabras, nem sempre, como já referimos, é possivel observar o parasita. Sómente em lesões mais ou menos recentes, isto se torna possivel e facil. Nos casos ns. 2 e 3 isto foi de extrema facilidade. Nestas escamas observamos um mycelio largo, septado, anostomosado irregularmente, lembrando o aspecto dos trichophytos e tambem do «Epidermophyton inguinale». Só nos decidimos a sua classificação após varios replantios em SABOURAUD maltosado, glycosado e com rapadura. O mesmo aconteceu no caso em que observamos as bolhas de ar semelhantes ás encontradas no cabello favico.

Em summa, para o diagnostico dos

microsporos não é sufficiente o exame microscopico; devemos lançar mão das provas culturaes o maior numero de vezes possivel até que resolvamos completamente a sua classificação. As culturas em gotta pendente, e exames directo das culturas são indispensaveis.

Na observação de *M. felineum*, ficou bem provada a origem animal do parasito (gato).

Ha ainda um facto que convem ficar, do conjuncto das observações sobre a Microsporia.

Nem um só de nossos doentes tinha edade superior a 12 annos.

ACHORION SCHÖNLEINII

Foi-nos proporcionado observar quatro casos de Favus a partir de fevereiro de 1917.

Transcreveremos aqui, por interessantes, as seguintes observações:

Observação nº 1—M. A. com dez annos de edade, pardo, solteiro, brasileiro, residente em Bello—Horisonte, vaccinado, matriculado no serviço sob o nº 2200, em 18 de Maio de 1918, Escolar.

A mãe vivia com individuo syphilitico. Está em tratamento mercurial. Ha quatro annos que lhe appareceu uma erupção no couro cabelludo de coloração amarellada «assemelhando-se, diz o paciente, a mél de abelha». Não havia nada nos tegumentos. Nunca fez um tratamento serio. A doença alastrou-se até que, mais ou menos rapidamente, perdeu elle os cabellos. Não houve contagio em seus quatro irmãos, nem na escola. Actualmente, occupando o alto da cabeça (entre as regiões parietaes e vertex)— uma vasta zona de alopecia, deixando de espaço a espaço tufos de pelos por vezes agglutinados ás crostas que succedem ás pustulas. Estas vêm-se numerosas, providas de puz amarello mais ou menos espesso. Ha algumas nitidamente perifolliculares. A' direita a placa desce sobre a região temporal, vendo-se apenas escamas, com o mesmo aspecto de alopecia. Outra placa abaixo e para traz do vertex e outra acima da orelha direita analogas. Placas minusculas disseminadas. Os pelos não sahem facilmente á tracção.

A 22 de Maio examinando-se cuidadosamente certas placas das mais recentes, vimos que eram constituidos por um sem numero de discos pallidos, atravessados de pellos. Estes jamais se encontravam cortados curtos. Cheiro de rato muito caracteristico. Os cabellos epilados trazem, ás vezes, esses discos, vendo-se então uma pequena depressão ao nivel do folliculo. Podem ser vistos outros discos maiores deprimidos em *godet*. A 4 de Junho de 1918 fez-se a biopsia de um cacifo do alto da região fronto-occipital. (Ver a photographia 38, para se ficar fazendo uma melhor idéa do que aqui se acha pallidamente esboçado).

Observação nº 2—W. S. 11 annos de edade, branco, brasileiro, residente em Roças novas. Admittido ao serviço em 13—11—917. Paes fallecidos. Não tem outra molestia além daquella que o trouxe ao Hospital.

Ha um anno notou o apparecimento, no couro cabelludo, de pequenos entumecimentos que suppuravam e davam logar á formação duma crosta. Sentia nestes entumecimentos pouco prurido. O pequeno em sua casa lidava com um cavallo, mas não refere ter notado qualquer lesão neste animal. Actualmente apresenta, na parte superior da cabeça, grandes placas crustaceas, seccas, com visivel perda de cabello. Trata-se de uma especie de alopecia, que nos faz lembrar a syphilitica. Para a parte posterior encontramos as mesmas lesões, que são menos numerosas para as partes lateraes. Retirando-se a crosta de aspecto ochraceo, vemos uma superficie brilhante, rosea. Estas crostas são bem espessas, attingindo algumas cerca de

dois a tres millimetros. Das suas lesões desprende-se um cheiro de ninho de rato muito pronunciado. Para as outras partes do corpo notam-se pequenas manchas roseas devidas a ferroadas de mosquitos. Nota-se uma pequena placa descamativa nas duas sobrancelhas. Nada mais apresenta-nos o doente, cujo estado geral é bom, não se queixando nem da mais leve elevação da temperatura. (Para mais amplos pormenores consultar as photographias nos 41 e 40).

As observações 3 e 4 deixamos de transcrever. A de nº 3, que é uma doente do sexo feminino, apresentamos a photographia nº 39 que dará uma idéa das suas lesões.

CULTURAS

Em todos os quatro casos, que tivemos opportunidade de descrever, foram obtidas culturas caracteristicas de «Achorion Schönleinii» em meios de Sabouraud glycosado, maltosado e com rapadura.

Foram ainda praticadas inclusões e cortes destas culturas. Estes foram corados pelos processos de GIEMSA, hematoxylina-eosina, azul de toluidina, de SAHLI, bem como pela hematoxylina ferrica de HEIDENHAIN e WEIGERT, que são optimos corantes e muito bons auxiliares para completa identificação do parasito. Foram tambem praticados exames culturaes pelo processo da lamina secca, technica essa pela primeira vez tentada (A. NEVES). Com ella podemos verificar «au grand complet» a morphologica do cogumelo. As colonias nestas laminas são estrelladas e mui semelhantes ás do Esporotricho de BEURMANNI, (Photographia nº 53).

Nellas podemos observar chlamydosporos intercalares de grandes dimensões, ás vezes pediculados; falsos esporos em cadêa; as formas ameboides descriptas por SABOURAUD; os candelabros favicos; os orgãos pectineos. etc. Para isto, cinco a dez dias após a sementeira, fixada as laminas immediatamente em sublimado-alcool durante 1, 2, 3, a 12 horas, lavamol-a em alcool a 70º iodado e em alcool a 70 puro durante meia hora, e, em seguida, collocamol-a em agua até que o alcool desappareça completamente. Coram-se em seguida, pelo GIEMSA, de meia a uma hora, para depois serem observadas com immersão. As formas bacillares encontradas após este tratamento não são raras. Vêem-se bellissimos chlamydosporos e as preparações assim obtidas são optimas para em estudo completo do cogumelo.

Das culturas apresentaremos algumas photographias. A de nº 42 representa a cultura original, do caso 1 (M. A.) com 20 dias de edade. A de nº 43 representa a mesma cultura vista de perfil, para se notar a elevação. A de nº 44 a cultura em tamanho natural correspondente ao mesmo caso da observação 1, (todas em Sabouraud glycosado). As photographias nos 45 e 46 correspondem ás culturas do caso da observação 2. Em todos os quatro casos as culturas foram positivas.

(Photographias 47 M. A. 2 meses de edade).

EXAME MICROSCOPICO DIRECTO

O exame microscopico foi effectuado em pelos retirados nos «*godets*», no puz que delle era retirado e em cortes. Em todos elles verificamos o parasito. Temos preparações coradas nas quaes podemos vel-o facilmente, não só nos córtes como nos pelos e como nos esfregaços de puz. Nos primeiros casos com sua disposição caracteristica; nos outros com a sua bella estructura e dissições falseadas, pela destruição ou esmagamento em maior ou menor porção.

ACHORION GALLINAE (1)

Andavamos já ha muito tempo, em busca do chamado «Achorion Gallinae»

(1) Communicação apresentada a Reunião da Clinica Dermatologica, em 30 de Junho de 920.

(Méguin Sabrasés—1890 93) em Bello-Horizonte. Elle parece ser, aqui, raro. (2)

Encontramol-o no gallinaceo—cuja photographia damos junto a este trabalho (Fig. 1).

Furtamo-nos nestas linhas ás discussões do historico, classificação botanica etc. corrente sobre o parasito.

Relataremos apenas o que foi visto.

A molestia, no nosso caso, a principio era quasi exclusivamente localisada na crista da ave, com raros e pequenos ataques para outros pontos (peito e pescoço.

Mais tarde evoluiu sobre o tronco e pernas.

O aspecto da crista, insistimos muito particularmente nisto, não era o de manchas brancas.

A côr amarello de ouro velho era manifesta.

Verificamos mais tarde, pela experimentação, que essa côr se apresentava desde o inicio das lesões.

As escamas, o bulbo das pennas, as crostas, tinham declaradamente esta côr.

A molestia seria antes, «crista amarella», que «branca"—do gallinaceo.

A descripção dos symptomas clinicos SABOURAUD (Les Teignes, SABOURAUD, 1910, pag. 557) refere-se com as seguintes palavras a côr das lesões:

«La tache blanche peut ainsi recouvrir la crête entiére et sur ses deux faces, le plus souvent la crête garde des parties saines. Plus une tache est agée, mieux elle se detache sur le fond rouge de la crête».

A côr amarella de ouro velho, do nosso caso, accentuava-se com a edade.

Quando destacavamos algumas pennas lesadas, na base de cada uma, na região bulbar, notava-se um verdadeiro collar de côr nitida, amarella (de ouro velho).

A molestia datava de mêses, e o insulamento sem tratamento algum, longe de melhorar peorou o mal.

Olhando-se com attenção para as lesões, tinha-se a impressão de crostas farinaceas, amarellas, cobrindo a crista.

A raspagem das lesões confirmava essa impressão. Não vimos «*godets*», macroscopicos.

O exame microscopico do producto das raspagens (preparados com o lactophenol e a potassa) revelava-nos a presença de esporos e mycelios de aspecto vario.

As culturas em Sabouraud maltosado mostraram-se a principio de difficil obtenção.

As associações com cogumelos communs das cristas e pennas, explicam o facto.

Quando as culturas do verdadeiro parasito começam a se desenvolver, já as sementeiras se apresentam recheiadas dos Mucor, Aspergillus, etc.

O artificio das lavagens previas, pela agitação dos productos a semear em sôro physiologico esterilizado, afastou-nos o impecilho, frequentissimo nesses casos, das contaminações por outros cogumelos não pathogenicos.

Sem afastal-os, é impossivel obter culturas do «Achorion gallinae».

As culturas puras deste cogumelo eram de côr branca, purissima, com aspecto manifestadamente de um «trycophyto» (Fig. 2).

Conservou-se este aspecto durante muito tempo.

A edade modificou-o menos a côr.

As sementeiras em laminas seccas (deixando sobre fina camada de Sabouraud maltosado) forneceu-nos mais tarde culturas com os caracteres que SABOURAUD (ob. cit., pag. 568) descreve para as dos «Achorion gallinae».

As culturas levadas á estufa, durante muitos dias, na temperatura de 30 graos, continuaram brancas.

As culturas em gotta—pendente (até 41 dias) revelaram-nos um trama myceliano rico.

(2) Depois disso, outros casos, aqui mesmo nos foram possiveis registrar.

Vimos mycelios longos, septados, com fusos não muito numerosos, multiloculados e sem nucleo visivel, a principio.

Com a observação prolongada vimos apparecer os nucleos naquelles fusos. (170 dias de evolução).

Os fusos tinham 5 ou 6 loculos.

Ha esporos externos, muito pequenos.

Inoculamos, por escarificação, essas culturas em 3 homens.

Estas inoculações foram negativas. 2 gallinhas inoculadas com o mesmo material, cousa alguma tiveram.

Uma gallinha inoculada directamente, com o producto da raspagem da crista do animal doente, apresentou, no fim de 10 dias, lesões typicas.

A lesão iniciou-se pela formação de crostas amarelladas, finas, facilmente destacaveis, deixando, ao cahir, sob as mesmas uma superficie avermelhada e humida.

Outras aves, que no mesmo gallinheiro se encontravam, separadas por uma fina tela de arame, contrahiram a molestia para logo que o gallinaceo nelle foi introduzido.

O gallo doente morreu no fim de muitos mezes, com a dermatomycose generalizada.

Todas as pennas quasi do corpo tinham um collar amarello ao nivel do bulbo. A ave estava magrissima. A necropsia não revelou cousa alguma digna de registro.

Os exames anatomo-pathologicos, da pelle do gallinaceo doente mostraram-nos um aspecto muito semelhante ao descripto por SABOURAUD (ob. cit, pag. 561).

Numa depressão da camada de Malpighi assentava-se um novelo de parasitos, com elementos caracteristicos.

No centro, constituiam uma tralha finissima que se espessava nalguns ramos periphericos.

Viamos ainda, mal despedaçada, a camada cornea, descamativa, recobrindo parte da lesão. Só uma vez encontramos este aspecto em «*godets*» typicos.

Nos demais cortes, os parasitos, em molhos regulares, assentavam-se sobre a camada descamativa, e com ella se misturavam. Tinhamos impressão, em certas zonas, que o parasito dissociára as camadas do *estratum disjunctum*.

ALEUROPHORA BENIGNA n. sp. (1).

Em 1916 um de nós descreveu um novo parasito, proximo do «*Malazzezia*» e, como este, produzindo uma dermatose benigna—«Aleurophora benigna».

São alli descriptos os principaes caracteristicos das lesões e do parasito.

Só nos é licito accentuar hoje, que não é tão extenso como julgamos, aquelle parasitismo. Elle poderá todavia passar, e deve ter passado, como sendo pelo «*Malazzezia*».

Apresentamos uma photographia typo do aspecto da lesão cutanea. (Photographia nº 54).

BLASTOESPORADOS

Seis foram os casos das chamadas blastomycoses. No puz dos abcessos, nos cortes, no inicio de algumas sementeiras, foram vistas formas classicas de blastoesporados.

Ora formas de levedura, espherica com nitido duplo contorno; ora formas de gemmação typicas—com grandes ou pequenos brotos. Nos cortes foram vistas as fórmas que G. VIANNA descreveu e que os Americanos de Norte com tanta insistencia teem descripto.

Nos esfregaços do puz, vimos phagocytadas por polylobadas fórmas minimas da levedura espherica com duplo contorno.

O aspecto dos parasitos nas lesões lembrava o descripto por HYDE e MONTGOMERY. O estudo deste grupo

(1) Brasil-Medico, n. 47 Annos XXX, Rio de Janeiro, 18—II—916, pag. 369.

veiu nos provar, ainda uma vez, a necessidade; 1º do estudo botanico completo de um cogumelo qualquer antes de sua inclusão (e tambem do caso clinico)—na systematica. E' bastante affirmar que, casos houve, clinicamente classicos—das chamadas blastomycoses, com aspecto macroscopico das culturas lembrando tambem—o dos blastomycetos e todavia, o estudo botanico veio provar que não se tratava de um blastoesporado.

Um aspecto unico não basta.

Elle póde evidenciar, quando muito, uma phase do cyclo do Arhyzophito; 2º a sem razão na divisão actual do grupo das Blastomycoses.

Já VUILLEUMIN e De BEURMANN e GOUGEROT, com superior criterio trataram do assumpto. O aspecto macroscopico das culturas, em Sabouraud classico, era pulverulento, enrugado afastando-se pois do typo de Busse em 4 casos. No restante o aspecto era de levedo (classico).

O estudo botanico completo dos parasitos deste grupo talvez constitua para um de nós (A. NEVES), um assumpto para ulterior trabalho pormenorisado.

CONCLUSÃO

I

Conclusões geraes:

a) Aspecto macroscopico das culturas dos cogumelos:

1) O aspecto geral macroscopico de uma cultura de um cogumelo, nos meios commummente usados, não é decisivo para o diagnostico da especie. Muita vez este aspecto é precario.

2) A pigmentação das culturas dos cogumelos, nos meios communs de Laboratorio, não póde servir como elemento decisivo para systematica dos Arhysophitos pathogenicos.

3) Como bôa technica, para o diagnostico da especie, a das «laminas secas», combinada com a technica de SHROTTER e o meio de SABOURAUD são os que parecem dar melhores resultados.

4) A technica dos esfregaços—para o estudo da morphologia dos cogumelos, é sempre defeituosa. Serve todavia, como meio auxiliar.

5) A reunião de todos os processos de que o Laboratorio pode lançar mão, é o que, no estado actual dos nossos conhecimentos, fornece maior numero de resultados positivos no diagnostico mycologico.

b) Aspecto microscopico das culturas:

6). Decorrem, neste terrno, os melhores resultados do maior numero de technicas empregadas.

7). Muita vez, numa unica preparação em «laminas secca», têm-se o quadro botanico completo do cogumelo.

8). As fórmas bacillares, longe de serem uma anomalia, são muito correntes nas culturas dos cogumelos pathogenicos (como nas lesões por elles produzidas).

9). A technica de fixação a humido pelo Sublimado-Alcool, e coloração pela Hematoxylina e GIEMSA dá optimo resultados.

c) Mate ial humano para exame:

10). A colheita deste material deve sempre presidir a melhor antisepsia possivel.

11). O exame microscopico do material retirado das lesões mycoticas, deve ser reiterado, para chegarmos sempre a um bom resultado. 3 exames nem sempre são sufficientes.

d) Reacções biologicas.

12). As reacções biologicas devem, quando possivel, ser pesquisadas como meio auxiliar de grande valor para o resultado final da pesquisa.

II

Conclusões particulares:

e) Microsporos:

13). Clinicamente não é possivel fazer, com certeza, um diagnostico differencial entre as especies conhecidas de microsporos pathogenicos.

14). No meio classico de SABOURAUD, o aspecto exterior dos microsporos serve como um auxiliar bom para a classificação.

15) Nos outros meios o aspecto é vario, não se devendo todavia despresal-o.

16). O exame microscopico das culturas, é utilissimo para o diagnostico da especie da origem.

17). O aspecto microscopico do material da lesão é vario, e não serve, na maioria dos casos, para um diagnostico preciso.

18). A microsporia, entre nós, Bello-Horizonte, parece ser o apanagio da infancia.

f) Esporotrichos:

19). Os 31 casos de cultura de esporotrichos que obtivemos, todos pertencem a uma unica especie--«Sporotrichum Beurmann».

20). Só em 3, dos 31 casos estudados, conseguimos nos exames directos, certa riqueza de parasitos.

21). O meio mais seguro para o diagnostico—é o das sementeiras.

22). As fórmas bacillares e de cocos são communs nos tecidos infestados pelos esporotrichos.

23). As reacções biologicas—de fixação do complemento e esporo-agglutinação, nem sempre coincidem com os resultados positivos das culturas.

24). Das reacções biologicas acima referidas—a segunda é a que fornece maior numero de resultados positivos.

g) Aleurophora, n. g. s. sp.:

25). A doença produzida pelo «Aleurophora benigna» approxima-se da do Pityriasis. O cogumelo, todavia, é um aleurosporado.

h) Malazzezia:

26). Os symptomas clinicos desta doença, não são pathognomicos

27). O aspecto microscopico do parasito nas lesões, pode variar. A sua pesquisa é facil.

28). As culturas negativas nos casos de Malazzezia são um bom indicio para o diagnostico.

i) Tricophytos:

29). Em Bello-Horizonte os Tricophytos são muito mais raros que os microsporos (um do 1º para 19 do 2º).

j) Favus:

30). As bolhas de ar nas preparações microscopicas e nos exames directos dos pelos, não são pathognomonicos dos Achorium.

31). As culturas dos 4 casos humanos da nossa estatistica foram facilmente obtidas. Nunca vimos formas pleomorphicas.

k) Microsiphonados:

32). As mycoses produzidas pelos microsiphonados são raras em Bello-Horizonte.

l) Oidiose:

33). As lesões, principalmente pulmonares, produsidas pelo «Oidium braziliense» não são muito raras.

34). Este cogumelo produz, nos homens como nos animaes, lesões clinicas muito semelhantes á tuberculose pelo b. de KOCH.

35). O tratamento pelos iodetos é o especifico para a cura desta oidiose

36). Ha, nas culturas do O. Brasiliense, uma fórma de «kysto vegetativo» semelhante ao encontrado no «Coccidium immites». Os resultados da divisão são porém elementos bacilliformes, que recomeçam o cyclo do parasito.

Ao Prof. EZEQUIEL DIAS deixamos consignados nossos agradecimentos pelo muito que nos facilitou na filial do I. O. C. em Bello-Horizonte.

Ao Prof. Dr. MARQUES LISBOA e ao Sr. OCTAVIO MARQUES LISBOA agradecemos a gentileza com que nos serviram na preparação de algumas das microphotographias.

LISTA DAS PHOTOGRAPHIAS E DESENHO.

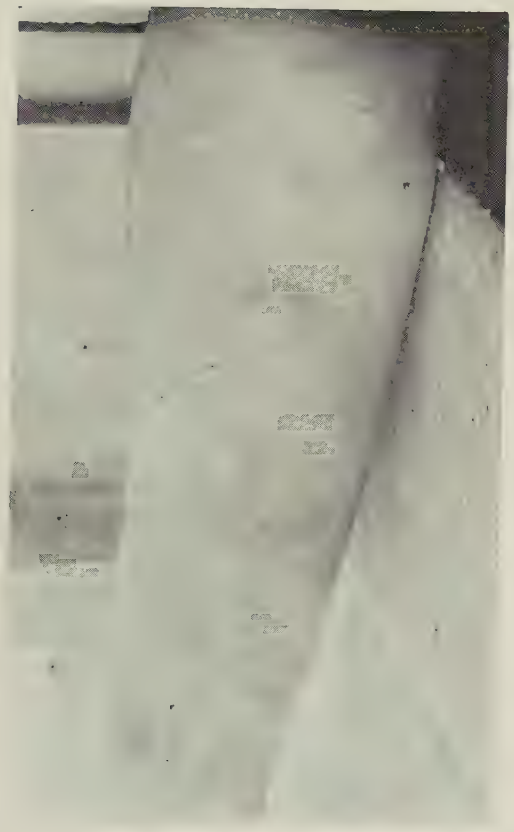
Photographia nº 1: Da observação nº 1. Caso de esporotrichose. Lesão inicial (cancro espotrichotico não visivel). Lesão lymphangitica e cutanea nitidas.

Phot. nº 1a. Mesma observação—cancro inicial espotrichotico.
« « 3 Cultura em Sabouraud maltosado, relativa ao caso da Observação nº 1, Typo classico, 47 dias de evolução.
« « 2 Observação J. M. Lymphagite esporotrichotica.
« « 2a. Cultura do caso J. M. 3 mezes e 17 dias de evolução. Typo classico da cultura de esporotricho.
« « 2b. Cancro inicial esporotrichotico. Observação J. M.
« « 2c. Outra face das lesões de J. M.
« « 4. Observação X. Cultura do esporotricho. Typo classico, 14 dias de evolução.
« « 5. Observação A. L. A. Cultura do typo classico 60 dias de evolução. 1912. Acreditamos ter sido o 1º caso de culturas positivas em Bello-Horizonte.
« « 6. Culturas sem dobras, brancas, pulverulenta de esporotricho.
« « 7. C. M. Cancro e lesões lymphangiticas esporotrichoticas. Cura expontanea.
« « 8. Lesões esporotrichoticas no membro inferior, Enf. 4536.
« « 9. Outro aspecto das mesmas lesões. Enf. nº 4536.
« « 10. Esporotrichose. Polyclinica Prof. Dr. ALEIXO. Amb. 5081.
« « 11. Amb. 1835. R. M. Esporotrichose.
« « 12. Observação R. A. «Malazezzia furfur». Lesões no dorso.

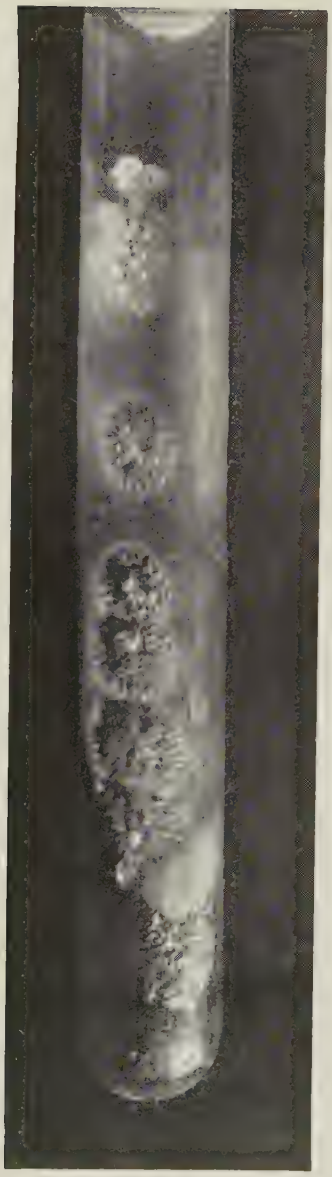
Phot. n. 13. Amb. 1975. «Malazezzia furfur». Pityriasis versicolar. Lesões no thorax.
« « 14. Enf. 5237. Pityriasis versicular.
« « 15. Amb. 1671. Eczema de Hebra. Observação nº 3.
« « 16. Cultura pleomorphica do «E. inguinale» (das escamas da axilla).
« « 17. «Epidermophyton inguinale» 64 dias de evolução. Inicio de pleomorphismo. Sabouraud maltosado.
« « 18. «Epidermophyton inguinale». Cultura de 18 dias. Observação nº 1.
« « 19. «Epidermophyton inguinale». Observação nº 4 Amb. 1829.
« « 20. «Epidermophyton inguinale». Observação nº 1. Amb. 1815.
« « 21. Pelos da barba. Amb. 1608. «Trichophyton equinum». Cultura em Sabouraud maltosado, 19 dias.
« « 22. «Microsporum lanosum» Cult., 25 dias em Sabouraud maltosado. Caso nº 1672, Amb.
« « 23. «Microsporon Audouini». Cultura 25 dias. Amb. 1681.
« « 24. «Microsporon Audouini». Cultura 19 dias. Amb. 1730.
« « 25. «Microsporon lanosum». Fórma pléomorphica dos cabellos. Amb. 1962.
« « 26. C. R. M. «Microsporum lanosum». Cultura dos cabellos.
« « 27. «Microsporum lanosum». B. J. Escamas epidermicas. 14 dias de evolução.
« « 28. «Microsporum lanosum». Cabellos. Caso nº 1943. 18 dias de evolução.
« « 29. Observação nº 16, Caso J. H. M. «Microsporum lanosum».

Phot. n. 1

Phot. n. 1-A

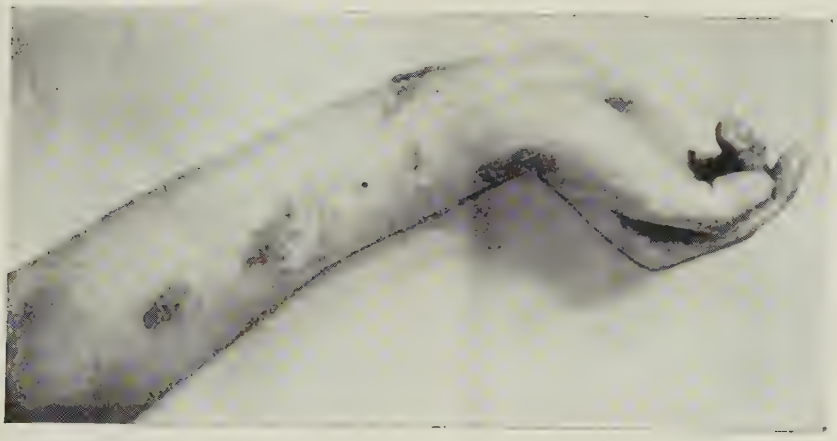


Phot n. 2

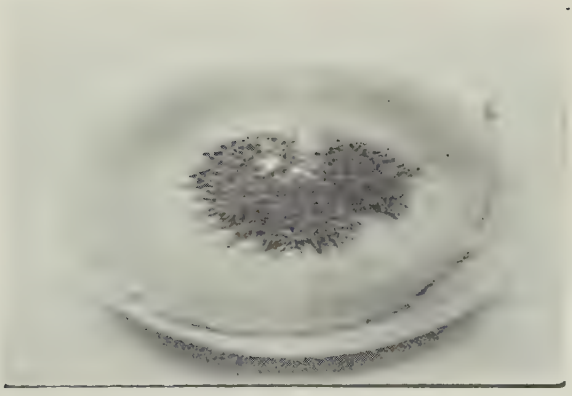


Phot. n. 2-A

Phot. n. 2-B

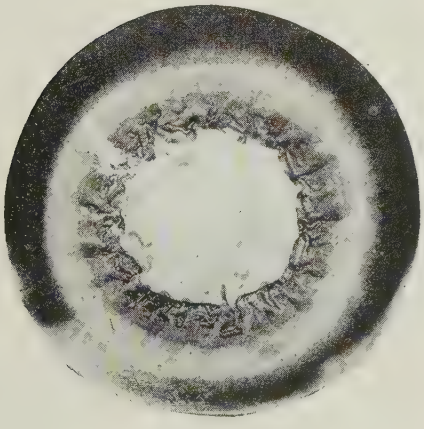


Phot. n. 2-C

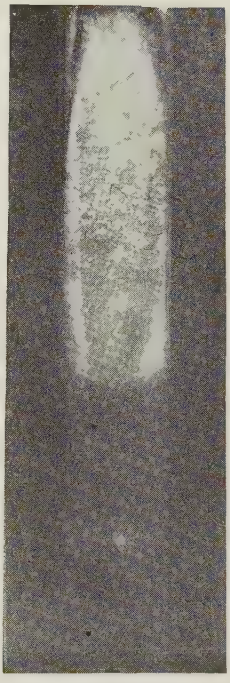


Phot. n. 3

Phot. n. 5



Phot. n. 4



Phot. n. 6

Phot. n. 7

Phot n. 8

Phot. n. 9

Phot n. 30

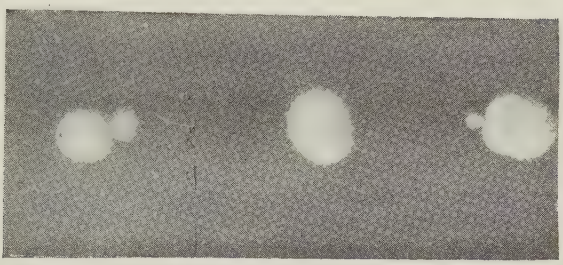
Phot. n. 11

Phot. n. 12

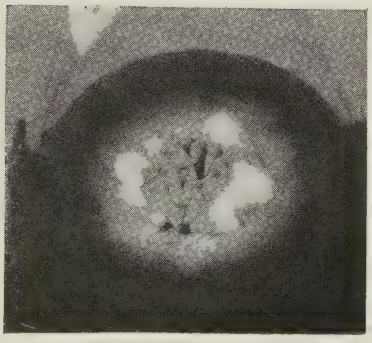
Phot. n. 11

Phot. n 14

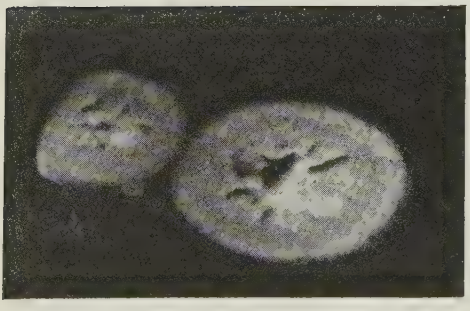
Phot. n. 15



Phot. n. 16



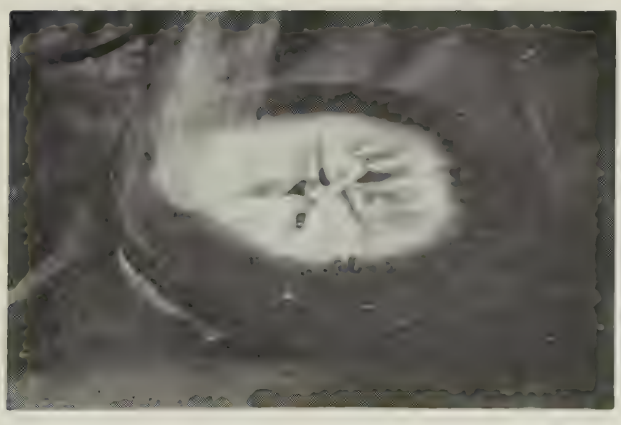
Phot. n. 17



Phot. n. 18

Phot n. 19

Phot. n. 20



Phot. n. 21

Phot. n. 22

Phot. n. 23

Phot. n. 24

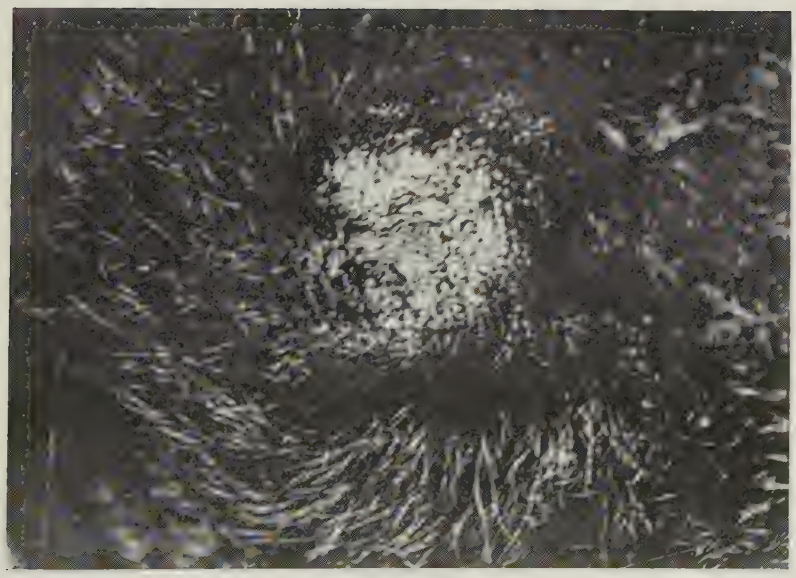
Phot. n. 25

Phot. n. 26

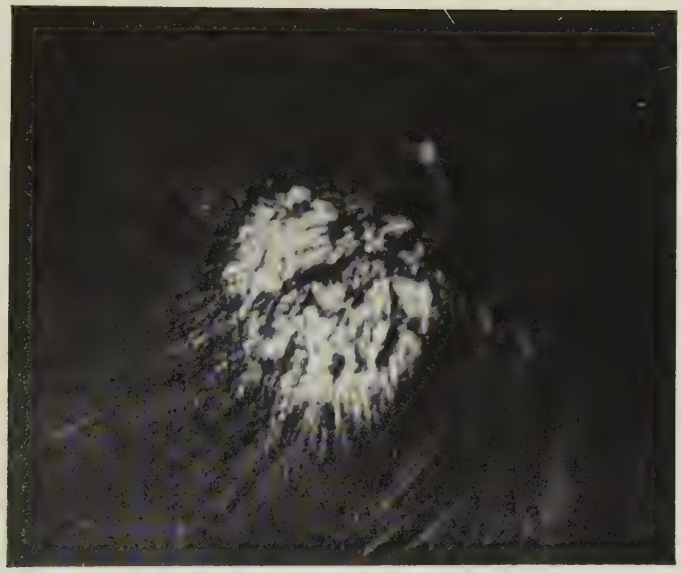
Phot. n. 27

Phot. n. 28

Phot. n. 29



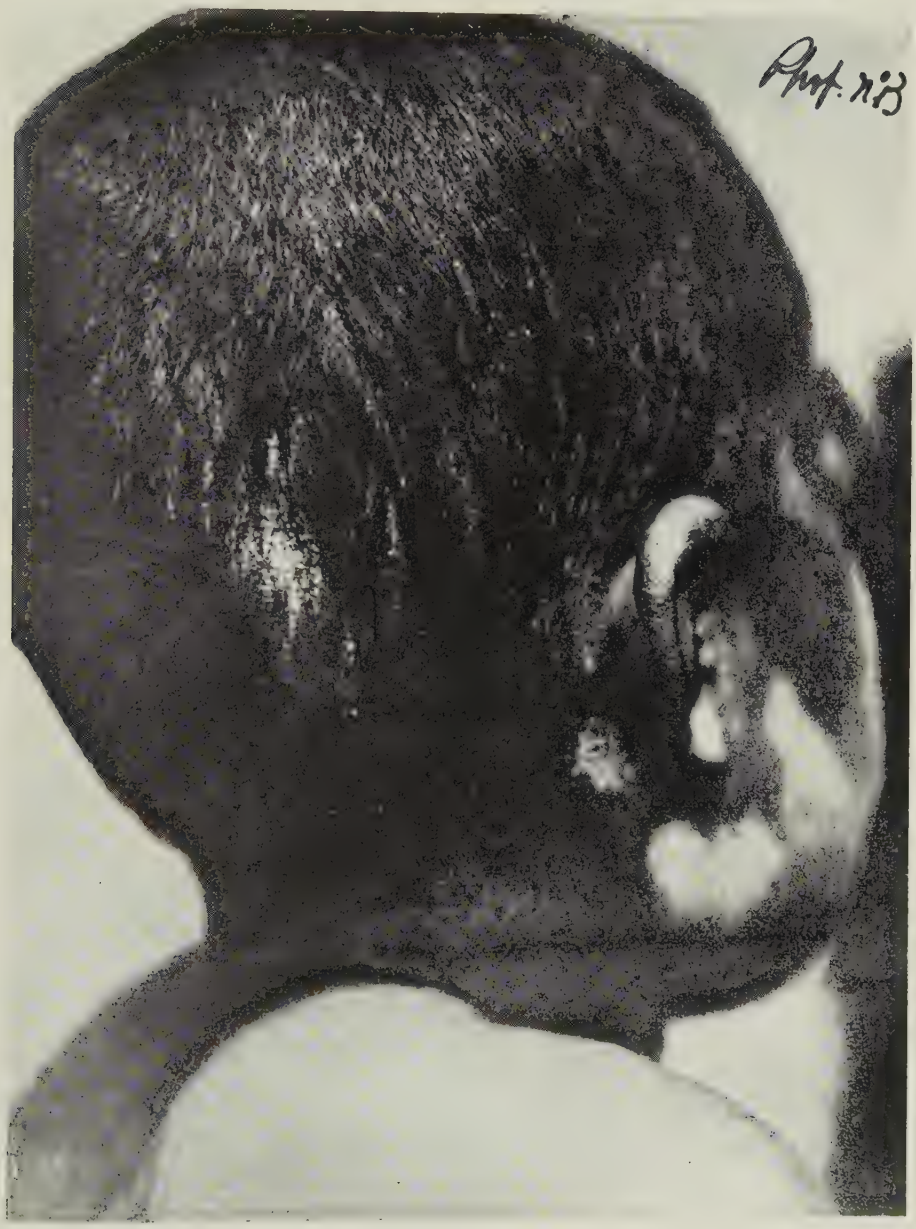
Phot. n. 30



Phot. n. 31

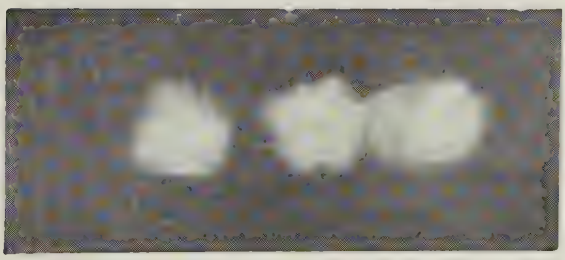
Phot. n. 32

Phot. n. 33



Phot. n. 34

Phot. n. 35



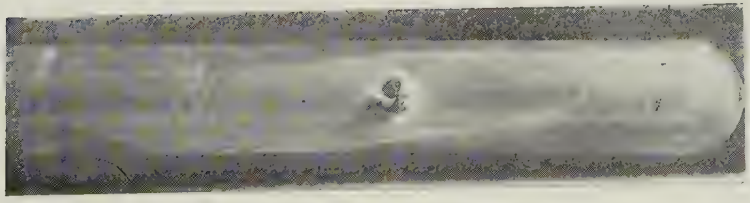
Phot. n. 36

Phot. n. 37

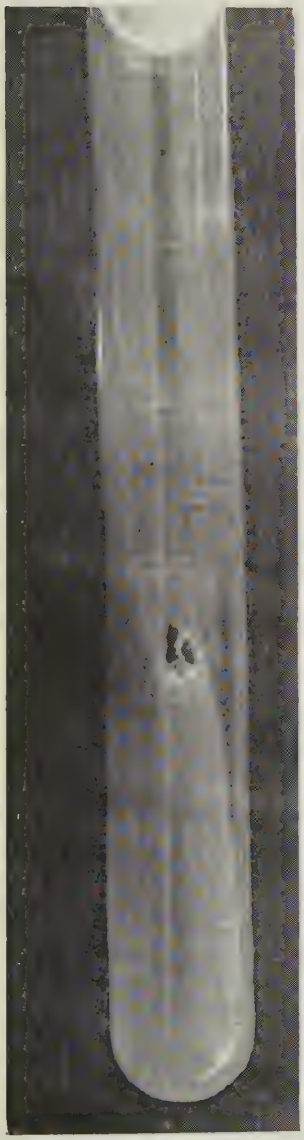
Phot. n. 38

Phot n. 39

Phot. n. 40

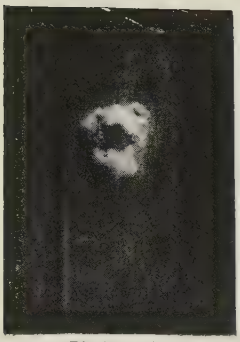


Phot. n. 41



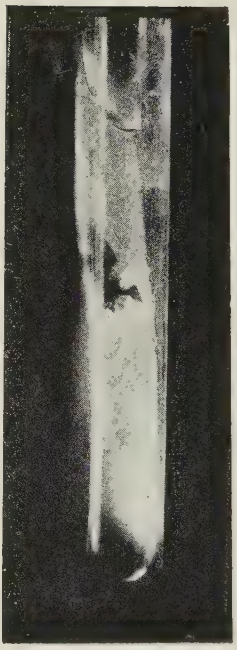
Phot. n. 42

Phot. n. 43

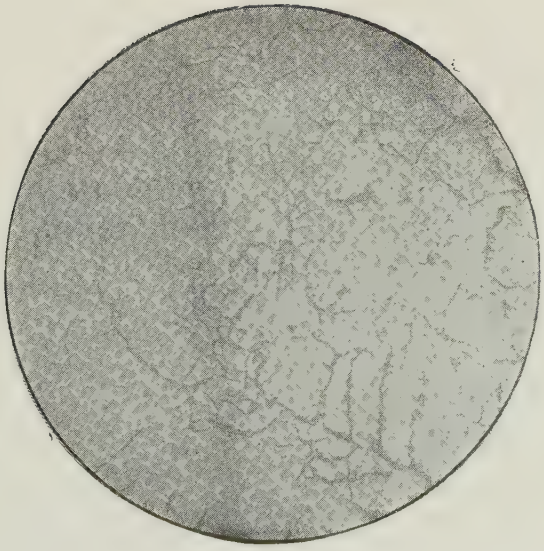


Phot. n. 44

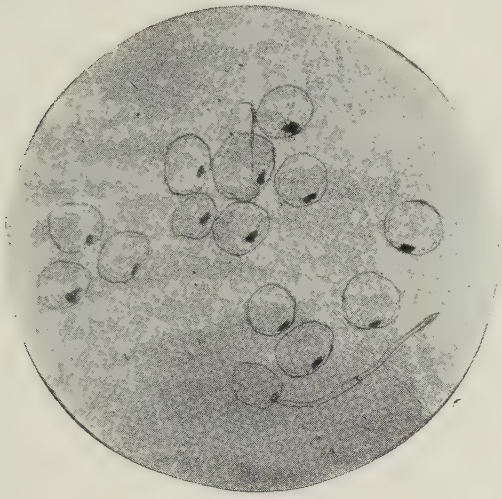
Phot. n. 45



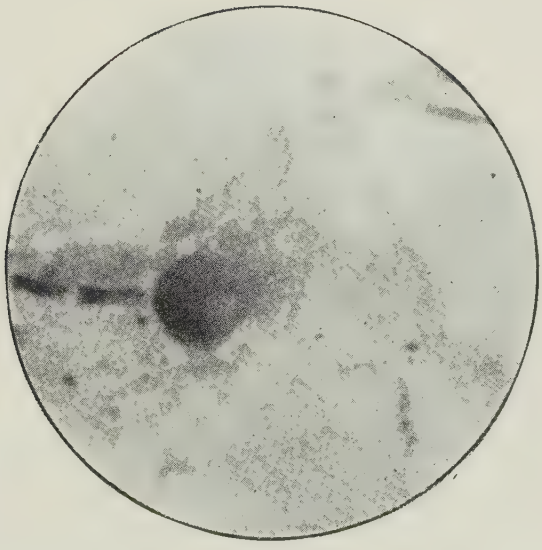
Phot. n. 46



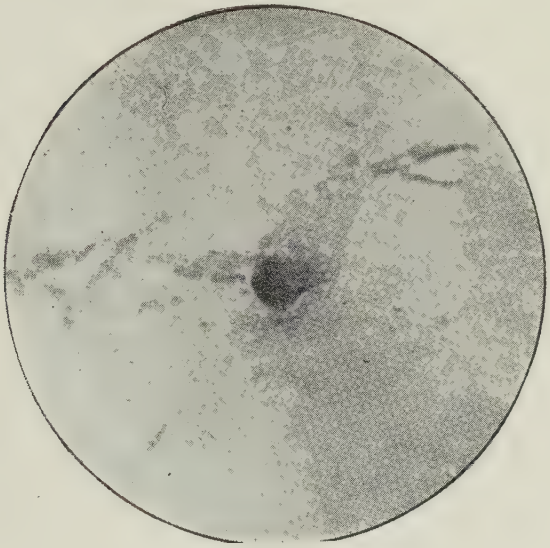
Phot. n. 47



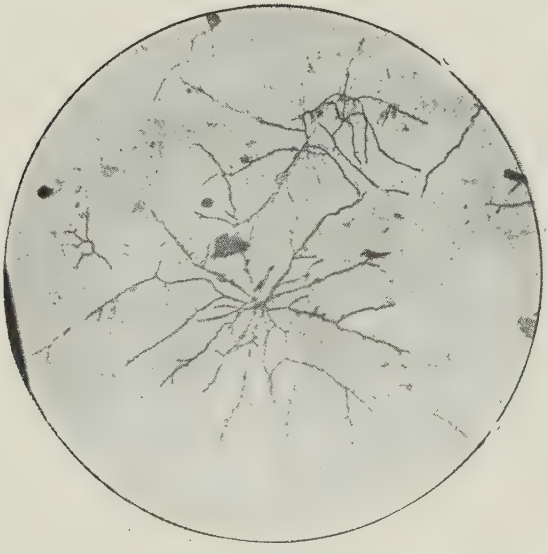
Phot. n. 48



Phot. n. 49



Phot. n. 50



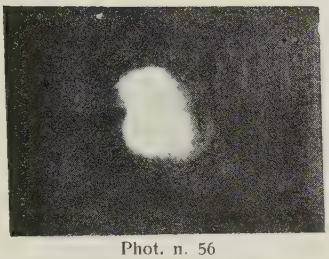
Phot. n. 51

Phot. n. 52

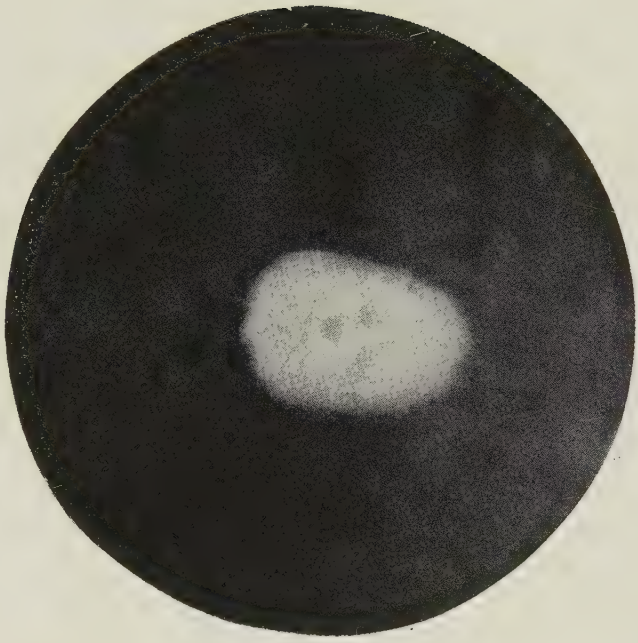
Phot. n. 53

phot. n. 54

Phot. n. 55

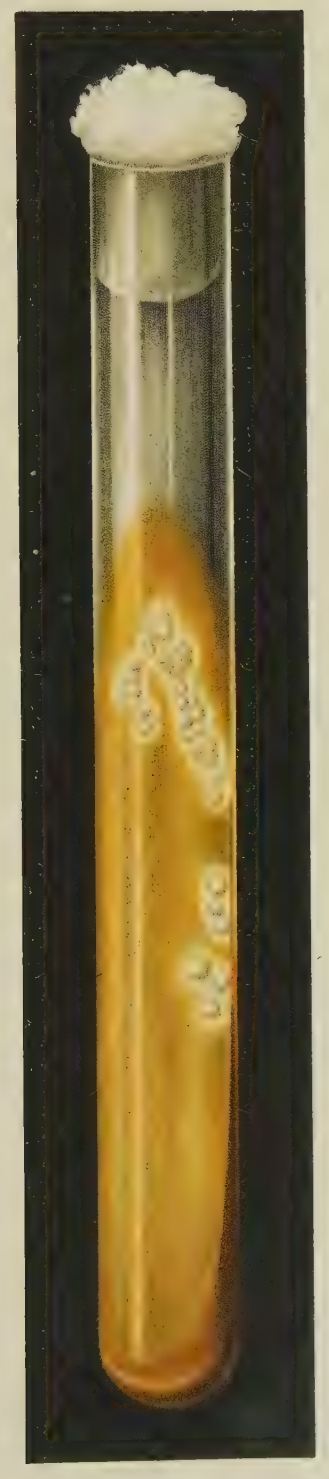


Phot. n. 56



Phot. n. 57

Phot. n. 58



CASTRO SILVA, DEL.

Phot. n. 30. Microsporia. Augmento forte, Amb. nº 1975.

« « 31. Microsporia. Amb. 1681.

« « 32. Microsporia. Amb. 1682.

« « 33. Microsporia. Amb. 1730.

« « 34. Microsporia. Amb. 1730, outro aspecto.

« « 35. Microsporia. Amb. 1730, outro aspecto.

« « 36. Cultura de «Microsporum Audouini» dos cabellos. Referente ao caso nº 1730.

« « 37. M. A. Favus.

« « 38. Amb. 1667. Favus.

« « 39. W. S. Enf. 5571. Favus.

« « 40. W. S. Enf. 5571. Favus.

« « 41. Cultura de Achorium schoenleinii. M. A. (Favus» Sabouraud glycosado. Do pelo.

« « 42. Cultura de um pelo de M. A. em Sabouraud glycosado. Perfil, ligeiro augmento.

« « 43. Cultura de Achorium Schoenleinii. 20 dias de evolução. Meio de prova.

« « 44. Cultura, caso enf. 5511.

« « 45. Cultura, caso enf. 5511.

« « 46. M. A. Favus. Cultura de 36 dias. Sabouraud glycosado (Perfil).

« « 47. Cultura em lamina secca de «Oidium brasiliense». Ocular 5. Obje. AA.

Phot. n. 48. Cultura em lamina secca de Endomyces albicans. Ocular 5. Obje. AA.

« « 49. «Oidium brasiliense». Cultura em lamina secca, Cellula mater dos elementos bacillares da cultura. Rotura do Kysto. Ocular 18. GIEMSA Objecto 1/12 Immersão homogenea.

« « 50. Mesmo que nº 49 Ocular 5. Objecto 1/12 GIEMSA.

« « 51. Cultura em «lamina secca». (Favus). Achorium Schoenleinii, Objecto. D. Ocular 5.

« « 52. Observação G. Doente ha 15 annos. «Aleurophora benigna».

« « 53. Gallo com a «crista amarella».

» » 54 e 55. Pennas com colar amarello produzido pelo «Achorium gallinea».

« « 56. Cultura 10 dias «Achorium gallinea».

« « 57. Cultura 20 dias «Achorium gallinea».

« « 58. Córte da pelle do gallo acima. Aspecto em «Godet» typico.

Desenho nº 1. Cultura incipiente em Sabouraud maltosado do «Oidium brasiliense» transplantado das «laminas seccas».

ESSAYS ON MYCOLOGY

(Contribution to the study of Fungi in Bello-Horizonte).

by

OCTAVIO DE MAGALHÃES and AROEIRA NEVES

[January 1912—June 1920].

(With Plates 56—91.).

This paper is meant to be a slight contribution to the study of the local mycological parasitology.

In it there will be found merely the essential for the understanding of our intention.

We shall exclude unessentials, minute details.

Cases will be brought up only in number sufficient for an ample illustration of our work.

Here we might repeat what a great physican said at the beginning of a profound book: «we are prevailed upon by no other thought than the desire to disclose the truth; in the search for truth we have been here as sincere as mayhap in the defense of some involuntary error».

FUNGI FOUND. MATERIAL AND METHODS OF WORK.

The material used for study was obtained from the Santa Casa Hospital and from private practice. The material from the lesions was of the most varied description. There is no call to specify here (Cf. further on). What we have to acknowledge is the courtesy of Professor ALEIXO, who was ever ready to give us the best chances for putting our program into execution.

FUNGI FOUND

Ascomycetes	Endomyces albicans	20	(**)
Hyphomycetes	Oidium brasiliense	40	(*)
	Sporotrichosis	31	
	Malassezia furfur	16	
	Epidermophyton inguinale	12	
	Trichophyton (equinum)	1	
	Microsporum		
	— Lanosum	18	
	— Audouini	5	
	— Felineum	1	
	Achorium		
	— Gallinæ	4	
	— Schœnleinii	4	
	Aleurophora (benigna)	5	(*)
	Blastosporous fungi	6	(*)
	Trichosporum hortai	5	
	Microsiphonates	1	(***)
		169	

N. B. Fungi marked with an (*) will be studied separately in a paper published by one of us elsewhere.
(**) Considered as Ascomycetes
(***) About 50 new ones are not included, belonging to various species found later.

- 1) Direct Examination
  - Without reactives. In a fresh state (between cover-glass and slide)
    - definitive (encircled)
    - temporary (unmounted)
  - With reactives
    - Unstained
      - Treated with lactophenol
      - Treated with hot potash (40 %) solution
    - Stained
      - Vitally
        - Coton blue
        - Methylen blue
        - Lactophenol-Coton blue
        - after differentiation
      - After fixation
        - Fixation by
          - Heat
          - Ethylic alcool, heated
          - Methylic alcohol
          - Absolute alcohol, unheated (ethylic)
          - Sublimate alcohol
        - Stained by
          - Coton blue
          - Polychromic blue
          - Giemsa
          - Iron-hæmatoxylin
          - Hæmatoxylin-eosin

- 2) Inoculation into culture-media
  - Maltose-Sabouraud
  - Glucose-Sabouraud
  - Sabouraud with unrefined sugar (molasses)
  - Glycerin-agar
  - Ordinary-Agar
  - Medium of Gorodkowa
  - Dry slides
  - Potato
  - Banana
  - Carrot
  - Hanging drop with different culture media

Imbedding and staining of some of these cultures. Macroscopical and microscopical examination of the cultures.

3) Experimental Inoculation	Rats, Guinea-pigs, Rabbits, Monkeys, Cats, Man	Different sites of inoculation
4) Examination of tissues obtained by biopsy	Fixation	10 % formaldehyde solution
		Sublimate-alcohol (Shaudinn)
	Stain	Giemsa
		Iron-haematoxylin
		Haematoxylin-eosin
		« -Van Gieson
5) Drawings and measurements	Zeiss Camera lucida	
	Preparations, vital, stained, permanent and otherwise.	
6) Biological tests	Agglutination of spores	
	Complement-fixation tests	
	Intra-dermo reactions (Cuti-reactions) with fungi	

We omitted, in this 6th. part, very purposely, the agglutination tests with the whole fungi. They have not shown up well in mycology. At any rate they have not been endorsed as similar reactions with bacteria have.

The discovery of GRUBER and DURHAM, except for isolated cases (1) is not yet an asset in diagnosis in the practice of present day mycology.

In the present paper, it must be stated, we have followed the plan drawn up by one of the authors and which is described in the thesis for a doctor's degree of Dr. MARIO COSTA (1919) (2).

ENDOMYCES ALBICANS

This commonly isolated fungus is often found in the saliva of children.

The culture is characteristic. To the unaided eye it mostly resembles colonies of yeasts. At other times it has a varying appearance. Wrinkling of the surface of the culture is however always very little marked.

It is not a common occurrence to find *E. albicans* and *O. brasiliense* associated in the same sputum. We have never found positive clinical evidence (except one case of a lesion of the mouth) of lesions caused by *E. albicans*. The biology of this fungus is the most characteristic.

VUILLEMIN's work, placing this species amongst the Ascomycetes, family Endomycetinae, allows of some doubts as to the unity of Endomyces.

We might point out that it is difficult to place in evidence asci in the cultures of *E. albicans*. Only on one occasion, while examining cultures on a «dry slide», where we able to find an ascus of one type of *E. albicans*,

(1) G. GUARELLI. Bull. Soc. Path. ex. XI, 1918, n. 10, 11 déc., p. 820.

[2] MARIO COSTA—These—Rio de Janeiro, 1919: "Mycose pulmonar pelo Oidium brasiliense".

in spite of the fact that we had already tried a great number of poor culture-media with this end in view.

This would conduce us to the belief either that reproduction by asci is the rarest mode of reproduction of Endomyces or else that there are several types of Endomyces (1).

Some writers claim that inoculation of this fungus on culture-media containing creosote, makes it easily distinguishable from other fungi, as no growth would obtain.

We may state however that we have had luxuriant growths of *E. albicans* in culture-media with a small amount of that substance.

This fact we have mentioned in the paper on *O. brasiliense,* published in the Memorias do Instituto OSWALDO CRUZ.

One of the best means of distinguishing it is doubless inoculation on alcaline culture-media, in which it does not develops, and on acid media on which it develops abundantly.

An interesting point about the cultures is that «rod-shaped forms» are also found.

Besides the culture-media employed up to now for this fungus, there is one yet to be recommended, simple and inexpensive—the banana (Musa parâdisiaca). Fine-looking and luxurient growths are obtained on the surface of the fruit.

It is necessary to prepare this fruit-medium when the fruit has reached an optimum stage of ripeness and is neither green nor overripe. The medium is prepared in the same way as potato-media. The latter have been employed even in this country with some success. (2)

ALDO CASTELLANI: — The British Medical Journal, 1912, pag. 1208. Importance of Hyphomycetes and other fungi in tropical Pathology.

ALDO CASTELLANI: — The British Medical Journal, 24 Sept. 1910, pg. 868—869. Observations on Tropical Broncho-Oidiosis.

ALDO CASTELLANI: — Philippine Journal of Sciences, 1910, «Endomyces tropicalis».

ALDO CASTELLANI: — La Presse Médicale, 5 juillet 1917, nº 37, pag. 377. Note sur la Broncho-Spirochétose et les bronchites mycosiques.

ALDO CASTELLANI: — Centralbl. f. Bakteriologie... B. 58, p. 236.

ALDO CASTELLANI: — Further Observations on the fungi of the genus Endomyces found in Man. Arch. de Parasitologie, T. XVI. nº 2, 10 Julho 1913, pag. 184.

GARIN: — Les champignons du Muguet et ses manifestations anatomo-cliniques chez l'homme. Gazette des Hopit. 1914.

(1) On this subject, CASTELLANI has written numerous papers.

(2) Dr. PIRAJA DA SILVA. Duas novas especies de fungos productores de maduromycose no Brasil Brasil-Medico March 15. 1918 n. 81.

OIDIUM BRASILIENSE.

We wish to insist here upon the diagnosis of this fungus. One of the authors (1) has already written about it in a preliminary note. The process for the isolation of this fungus may serve as a model for the isolation of many other (filamentous) fungi from the same material.

The isolation from the sputum is done by the process of the «dry slides» (2), in the following manner:

The sputum lifted at the most grumous part with a previously heated platinum-loop, is allowed to slide about half way up the slide which is going to be inoculated. Running by its weight or rubbed along with a delicate pressure it finally flows into the liquid or paste which limits off the surface of the slide about a finger's width from the end.

Forty eight hours later, on the slide, along the parts contaminated, there are seen arising microscopic points which careful examination shows to be stellate. Under low magnification, these points reveal a dense dark centre with short and delicate strands radiating from it. This is a faithful reproduction of what is seen in the case of the Sporotrichum species (4).

One of these colonies is reinoculated into maltose—Sabouraud. In this medium small colonies are frequently seen to appear (after 48 hours). These colonies are rounded with a slightly prominent center and an irregular or smooth surface of a dark-brown colour and are surrounded by a crown of very delicate spicules.

These spicules are more easily seen when looked at slantingly. After growth an appearance is shown similar to that seen in Fig. 1. All bacterial contamination is thus easily obviated.

On the other hand, on a single slide all the botanical characters of the fungus may be seen together. We give phots. 51 and 52, obtained from inoculation on dry slides and which furnish new aspects of the evolution of *O. brasiliense*.

We had already found in preparations of *O. braziliense* the «resistant cell», a type of large cells which WEIL described in some yeasts. In this we find an aspect which discloses the origin of the rod-shaped elements of the fungi. This is just a large cell, which after the formation inside it of these bacillary bodies, by successive division of chromatin and plasma, ruptures and and frees the simple products of division. These begin anew the cycle of the fungus. We have here a real vegetation-cyst.

In the cultures of *O. braziliense* we were able to follow the evolution of these cyst-cell up to dehiscence.

At the beginning these cells are large, with the protoplasm uniform and staining deeply with GIEMSA. At this period no sign of division is to be made out within them. As they evolve, however, there is a grouping of chromatin—masses and round these elongate bodies of protoplasm. Within a short while the whole plasm of the cell is broken up by scissiparity and large cells are to be seen full of rod-shaped bodies, well stained by GIEMSA and finally there comes the stage of dehiscence.

Once free, the bodies again take up the cycle, mycelium, conidia and

---

(1) O. MAGALHÃES: Brasil-Medico, n. 24, July 15, 1918. XXXII. 185.

(2) DE BEURMANN et GOUGEROT: Les Sporotrichoses. Paris, 1912, pp. 565–573, fig. 135.

(3–4). Cf. Phots. 48 and 49.

(5) O. MAGALHÃES: Memorias do Instituto Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro n. IV, Vol. X, 1918.

(1) Sec also photographs 48 and 49.

[2] GUILHERMOND. Les levures.

so forth. Recently THEOBALD SMITH (1) described a fungus, very polymorphic in appearance, which was the cause of an epizootic pneumonia of young calves.

Besides the rod-shaped forms others have been described like cocci and like actinomycotic conglomerates. But in the whole article there is something indefinite which might perplex any novice in the field of arrhizophytic forms.

SPOROTRICHOSIS

Cases of sporotrichosis are, together with those in which Oidium and Microsporum are found, the cases seen in the largest proportion in this work. Most of the clinical cases (about 31) were of lymphangitic lesions in which the initial sores caused by Sporotrichum were still to be seen (See Cases 1, 2 etc.).

An interestering history was that of a boy, in whom the initial lesion on the cheek, remained for long isolated, gummatous and purulent.

There was an exceedingly slight involvement of the lymph system of the neck and of the sub-maxillary region.

The enormous and indelible scar ensued when the necrotic tissue had been discharged and after treatment with iodids.

We also saw a lymph-gland involvement in the neck. The patient was brought to consultation as a possible case of Hodgkin's disease.

In smears made from the material obtained by puncture, fungus forms were found.

Sabouraud's culture-media with maltose gave, when inoculated, pure cultures fairly rich in pigment.

In this case there was no initial sore in the infection. Very likely, taking in account the seat of the lymph-gland infection, penetration had taken place through the mucosa of the mouth or through the tonsils.

It is a known fact that Sporotrichum forms may be found in the mouth without any diseased condition of it. It is not therefore extravagant to suppose that the fungus may have entered through some effraction of the mucous membrane next to the dental arches or at some other point.

This would be by no means the first instance of this kind in the litterature on sporotrichosis.

BEURMANN and GOUGEROT's case VI is a very demonstrative one. (1)

In this case only the lack of a lesion, at any rate of a lesion visible to the naked eye was to be observed.

As far as we are informed, only of late has it appeared to be proved that they may find their way in through the normal mucous membranes without leaving any traces.

One of us, however, demonstrated in experimental work on monkeys this interesting and far-reaching property of the fungus. *Oidium brasiliense.*

For many parasitic diseases of unknown origin this might be the means of penetration in man or in animals.

This would be no exception in the chapter of organisms pathogenic as regards to man.

Another localisation, interesting because it was primary and because of the possible confusion with tuberculosis, was that seen in Phot. 11.

We saw another case very similar in its clinical appearance and in its response to treatment, as well as in the possible diagnostic confusion it might give rise to. In this second case the appea-

[1] TH. SMITH. Journal of exp. Med, XXVIII. 333, Sept. 1, 1918.

[1] DE BEURMANN et GOUGEROT. Les Sporotrichoses. Paris, Librairie Felix Alcan, 1912, p. 315.

rance of the lesion was clearly verrucous. The first was seen partly in epidermis and partly on mucous membrane (of nose), the second was purely epidermal.

There is another point which merits the attention of workers. It is that concerning the more or less obscure question of the incubation period. Almost all patients can be made to describe the mode of inoculation. They will thus incriminate a thorn or some other traumatic cause as being the source of the trouble.

In most cases, however, the question of term of incubation remains more or less obscure.

The case of our patient n. 1, with lymphangitic lesions, is however very patent in this respect. Forty eight hours after an insignificant and bloodless excoriation on a rose-thorn, the first symptoms of the condition put in their appearance. These were of pain locally at the part affected, which did not prevent him from working.

These symptoms of pain preceded the objective symptoms which led the patient to the Hospital, i. e. local ulceration and lymphangitic nodules.

In almost all cases it was possible to see the initial sporotrichum sore.

Laboratory research undertaken on the material taken from patients may be mentioned here.

One particularity may be pointed out from the outset: it is that of the great poverty in fungus forms usually met with in material from human cases of infections (1).

Our attention was once called, in a tone of censure, to the fact that preparations seen in books and made abroad by authorities contained the fungi in enormous numbers. Well as a matter of fact, in the most careful and accurate investigation, in our laboratory, of 31 cases, only in 3 instances were the fungus elements plentiful in preparations. Negative results in direct examination were frequent.

The classic forms are also rare. Round forms, small and ovoid forms, with or without a septum are often met with.

Fixation by ordinary alcohol, heated, or by methylalcohol, and the GIEMSA stain, were generally sufficient for the first examination. Inoculation in culture media of the material was not dispensed with. This was also the decisive factor.

These cultures were made on «dry slides», on maltose-Sabouraud, on glycose-Sabouraud or on Sabouraud with molasses.

Cultures of sporotrichum on the first and second of these media are not pathognomonic for the fungus. Already one of us, in an article in the Brasil-Medico of June 15, 1918, has dealt with the question exhaustively.

Identical cultures are obtained with «*Oidium brasiliense*», *Endomyces albicans, Achorium schoenleinii, Penicillium glaucum, Monilia forms* etc. (Cf. fig. 1).

We stated that: The macroscopic appearance, in «dry slides» and on maltose Sabouraud, were faithful reproductions of that obtained with Sporotrichum forms. It is a particularity on which we would like to direct the attention of workers. On page 565 (op. cit.) BEURMANN and GOUGEROT state:

«Il faut bien remarquer que ce contrôle microscopique est inutile lorsque l'on a suivi la technique que nous avons réglée et que l'on fait couramment le diagnostic bactériologique de sporotrichose, sans étuve et sans microscope, avec un simple tube de gélose glycosée loin de tout laboratoire». And further on page 562:

«Ce n'est donc que dans des cas

[1] See Cases 2, 3 etc.

exceptionnels que le contrôle microscopique des cultures est nécessaire; c'est lorsque les cultures on été faites sur des milieux défavorables ou sur des géloses glycosées-peptonées brulées ou trop vieilles et déssechées».

In the article of the same authors in KOLLE and WASSERMANN's Microbiology (1913), in GILBERT and BROUARDEL's treatise (1910) in the book. «Les nouvelles mycoses». (Encyclopédie scientifique des aide-mémoire—Direct.—LIAUTE'), in the book written by DOPTER and SACQUE'PE'E (Bactériologie, 1914), in that of AGASSE-LAFONT, in that of LUSTIG (1913), in fact in most works on the subject the same statements are found.

We obtained exactly the same cultures observed with the naked eye with the process of «dry slides» (phot. n.) as on maltose Sabouraud itself (Drawing n. 1) with *Oidium brasiliense*. and with *Endomyces albicans*.

In the latter the resemblance was not limited to observation with the naked eye (phot. n. 50).

Examining cultures of *Endomyces albicans* just beginning to grow, we were able to find dispositions looking like pictures of what is supposed to be characteristic in Sporotrichum growths (1). Only posterior examination with the unaided eye and with the microscope can dispel the illusion. We will say nothing of certain free-living fungi and of *Hemispora stellata*. The latter has already been mentioned by DE BEURMANN and GOUGEROT as a possible cause of error, though one that is easily obviated.

It is important not to overlook, and we have a good deal of experience in this particular, that Sporotrichum forms do not always give typical cultures. Pleomorphism, to use a generally accepted term, is not infrequent among them».

What is not to be mistaken in smear-preparations and in «dry slides» is the disposition classical in the family of the Sporotrichaceae, sub-order Conidiosporata, genus Sporotrichum VUILLEMIN (1). This is evident. The picture botanically is always the same. (2)

Anomalous forms are rare. In the work of GOUGEROT cited we find already mentioned these curious aspects of the parasite. Macroscopical appearance is varied and uncertain. The question of pigmentation, for instance, has been thoroughly investigated by DAVID J. DAVIS (3).

He has proved that the question of pigmentation in the Sporotrichum cannot be made use of at all as a basis of classification. We feel that this demonstration of the fallibility of pigmentation as a criterion for classification in the genus Sporotrichum might soon be extended to a great number of known fungi.

We may, with a few experiments, say that we not only corroborate the evidence of DAVIS but still further assert that the macroscopical appearance of cultures is fallacious as a criterion.

Cultures of classic appearance are seen in Phots. 3, 4, 2a. and 5.

Others more with the appearance of yeasts (Phot. n. 5).

---

[1] Les Sporotrichoses, page 568, fig. 133, op. cit. Maladies parasitaires communes à l'homme et aux Animaux, Ed. Baillière et Fils, 1910, V, IV, page 403, fig. 22; Kolle de Wassermann, Handbuch, 2nd Ed.; 1913, Sena, G. Fischer, page 249, fig. 24.

[1] LANGERON, Bull. Soc. Path. ex., XV, 1922, pp. 453—459.

LANGERON wishes to include in this group Sporotricha and Binocladia [which were one Sporotricha].

LANGERON. Nouveau Traité de Médecine, IV, 448-466, Paris, Masson ed., 1921.

(2) DE BEURMANN and GOUGEROT, p. cit. and DE BEURMANN and GOUGEROT: Etat actuel de la question des Sporotrichoses. Arch. fuer. Dermatologie and Syphi. B. 110, pp. 25—911.

[3] DAVID JOHN DAVIS. Chromogenesis in Cultures of Sporotricha in the Journal of Infections Diseases, vol. 1, page 174, 1915.

There are cultures completely covered with very fine hairs (velvety appearance).

With further development this appearance comes to an end.

We obtained one specimen from a culture with the classic characters, which with time transformed itself in a type very similar to that of *Proteomyces infestans*. In this case resemblance was not only macroscopical. This was, in fact, the only instance we have met up to now of a botanical anomaly of the Sporotricha. This anomaly comprised the thickening of the mycelium, the form of the spores, and even in some points the stipital insertion of the latter. This anomaly, which in the opinion of many people would be enough for the creation of a new species, must be paralleled with that other anomaly described by DE BEURMANN and GOUGEROT in which a «blastomycotic form of sporotricha» is seen (1).

Another inconstant appearance nevertheless worthy of mentioning is that seen in phot. 6, in which the culture of the fungus, literally covered with a white powder, reminds one of the growths of certain blastosporous fungi (DE BEURMANN and GOUGEROT, op. cit., page 93, ascribe this appearance to pleomorphism).

This appearance is due to real aerial hyphae made up of mycelia placed side and of characteristical conidia. This appearance may or may not be discontinued with repeated reinoculation of media.

There are cultures which, from being pigmented, transform themselves into pigment-free growths after repeated reinoculation of culture-media. The converse is also seen.

There are parasitic forms which are somewhat uncommon.

These are minute cocci, with or without a double-outline, and, above all the rod-shaped forms. The latter we were able to see in great numbers in a case of sporotrichosis typical both from the clinical and the microbiologic point of view.

These were for a long time passed over in silence or interpreted as degenerated or anomalous forms (1) (no mention being made of the Discomyces).

Rod-shaped forms have already been seen in this country with some degree of frequency in *Endomyces albicans, Oidium brasiliense, Achorium schoenleinii*, Blastosporous forms, and, on a large scale, in the case of *Adenomyces cruzi* (O. MAGALHÃES, A. NEVES, E. DIAS).

They are rods mostly short and stumpy with or without varied granulations. The origin of these forms was ascertained by one of the writers in the case of *Oidium brasiliense* (Phots. 51 and 52).

They are akin to those other small coccus forms of double outline, described in a type of cryptococcus by G. VIANNA (2) and by north-american writers (3) (4) and which HARTMANN took to be a new protozoon. As in cryptococci, these forms arise from a big rounded cell, whose dehiscence is operated by a tear running at an acute angle, and setting free the rod-shaped bodies. The latter are formed by the scissiparity of the nucleo-protoplasmatic mass of the mother-cell, which may be considered a real cyst.

---

[1] DE BEURMANN and GOUGEROT, op. cit., page 135.

[1] BROUARDEA. GILBERT, THOINOT: Maladies parasitaires communes a l'homme et aux animaux. V. IV. Paris: 1910, page 380.

[2] VIANNA, G.: Molestia de Posadas-Wernicke. Lesões appendiculares. 1913.

[3—4] MAC NEAL, W. J. and TAYLOR, B. M. Coccidioidal Granulama. Journal of Medical Research, July 1014. XXX, n. 3, page 1.

[5] BLAKE, N. F., Jl. of exp. Med. XXII, n. 1, Jan. 1916. The Etiology of Rat—Bite Fever [Soduku].

[6] Jl. of inf. Dis., N. 6, V. 23, pagd 555, Dec. 1918 Jl. of inf. Dis. V. 23; n. 2, August 1918.

In the field of serum-agglutinations for sporotrichum, which we often undertook, the excellence of spore-agglutination as compared with complement-fixation for sporotrichum should be pointed out.

The latter may fail when the former is positive.

As regards treatment, it may be mentioned, that the the ministration of iodids gave capital results in 23 cases. In one case there was evident resistance, another got well spontaneously. Coexistence of syphilis is frequent in patients with sporothrichosis, as was shown by various means, including the WASSERMANN reaction.

We must mention here that cultures of Sporotricha, as also cultures of Achorium, imbedded and cut are of great value in the study of these parasites. Fixation must be carefully carried out—in Sublimate-alcohol—imbedding in paraffin and staining in haematoxylin with a good differentiation after it.

Inoculations of sporotricha in animals give mostly useful results. Rats gave us the best results in the study of this fungus. Nothing was observed in this chapter besides what GOUGEROT had already minutely described.

There is just one fact, similar to that observed in the human lesions, which ought to be pointed out, i. e. the scarcity of parasites in smears and sections of experimental sporotrichotic lesions.

In the comprehensive work of FRANCIS G. BLAKE on Sodoku and in others which followed on the same or allied subjects, there is always found the description of a fungus, which besides a most marked polymorphism displays numerous and constant rod-shaped forms.

As an anomaly of development in sporotricha, we found cultures covered with real spicula and reminding one of cultures of some blastosporous fungi.

CLINICAL CASES

Case of Sporotrichosis. Lymphangitic form (corresponding to phot. n. 3).

M. T., Brazilian, brown, 18 years of age, domestic occupation. Family antecedents, parents dead, cause unknown. No brothers.

Personal antecedents. When she was a child the patient had measles and whooping-cough and later a slight attack of rheumatism which was rapidly overcome.

While at work, planting rose trees, she happened to wound herself very superficially, on the palmar surface of the right thumb.

Two days after this wound, which was insignificant, causing no bleeding and not preventing the patient from proceeding with her work, she began to feel very slight, but persistent, pains at the site of the wound.

Two months later there appeared a small ulcer at the same point, with lymph-gland swelling on the finger and on the outer and anterior surfaces of the right fore-arm; within a short time the axillary lymph-nodes were also involved.

Some of these lymph-nodes ulcerated as is to be seen from the photograph given; slight depressions of a perfectly circular shape resulted. No signs of a perfectly circular shape resulted. No sign of hereditary or acquired syphilis.

WASSERMANN Reaction: Negative.

Other organs perfectly normal.

Treatment:

Potassium Iodid, 3 grams a day and local application of tincture of iodine. This treatment gave prompt results, and the patient was perfectly cured within a month.

Mycological Diagnosis: *Sporotrichum beurmanni.*

Pure culture with the classical cha-

racters. Inoculations in marmosets and other animals with positive results.

Bello Horizonte, September 1912.

J. M. S., a waiter, 23 years of age, single. Nothing of interest in anamnesis.

About two weeks ago he observed a pimple on the mesial border of the right arm, on the lower third. Later this pimple became ulcerated, which the patient attributed to repeated trama.

As soon as the ulceration became more extensive, there appeared a little pain in the joint but not strong enough to cause any real discomfort.

At present there is to be seen an ulcer of irregular borders and showing at times small abscess which void a small quantity of pus when compressed. On the ground of the ulcer small vegetations of pinkish colour are to be seen.

On the anterior surface of the fore-arm, more or less at the middle of it, at the site of the initial sore, 6 gummata were to be seen, the fourth being the most developed.

This lesions we punctured and with the material obtained inoculations in culture media and smear-preparations were made, with the advantage of using material from a shut lesion for these purposes. At the height of the fold of the elbow we could make out another little gumma, which was easily palpable.

On the arm, along the mesial border of the biceps, three more gummata were to be seen, the lowest being the smallest. On the lower third, of the fore-arm between the ulnar border and the middle-line, in the vicinity of the initial sore, other gummata are to be felt and seen, owing to the purplish colour which they present.

General state of patient good.

Direct examination: negative.

Cultural examination: positive.

Mycological diagnosis: Sporotrichum.

J. O. S., portuguese, married, 27 of age, potter.

About 15 days ago, a small pimple or «nails head» as it is known popularly, about the size of a pin's head, ulcerated and went on increasing progressively until it attained its present dimensions, which are of 1 centimeter and a few millimeters in antero-posterior diameter and of 0,5 cm. transversally, and located on the posterior surface of the left fore-arm.

The patient states that there had been no previous trauma.

At present there is the initial sore to be seen with the dimensions stated. Along the whole periphery can be clearly seen an infiltrated, inflammatory zone. The lesions is not painful and does not cause any discomfort to the patient. Nearer the mesial border a gumma is noticeable. Higher up, below the elbow and on the same border, three nodules, conspicuous on account of there red colour, are to be seen. Still higher up are another two nodules, of smaller dimensions, but still clearly perceptible and of the same colour. The general state of the patient is good. No fever. From the anamnesis is to be learnt that the patients mother always suffered from the liver. She had had no miscarriages. The patient's father was always healthy.

Diagnosis: Sporotrichosis.

Treatment: Potassium Iodid.

Microscopical examination of the pus and serous fluid from the closed lesion: negative.

Cultural examination: positive.

Mycological diagnosis. *Sporotrichum beurmanni.*

Cured.

Sept. 19th., 1917.

S. B. n. 5004. Name: J. D. Age: 23 years. Colour: white. Single, born in State of Minas Geraes, workman. Resi-

ding at Capella Nova do Betim. Is vaccinated. Admitted Aug. 18th., 1917.

Anamnesis. A rare case of ocular location, was studied with care by Prof. LINNEU SILVA (see communication).

Family antecedents. Father alive, aged 55. Mother died 8 months ago with a disease of throat. While alive she had 9 children, of which 3 died at an early age.

Personal antecedents. Whooping-cough, while a child. Fracture of one of the legs.

Study of present disease. About a month ago, the patient noticed that a small swelling had developed at the mesial angle of the left eye; soon after he wounded the spot with his nail.

After this, the patient says that a little below the mesial angle of the orbita, the skin became red and gave rise to the formation of a phlyctena. Next there developed three more swellings on the left half of the face.

Present state. At the mesial angle, there is to be seen on the left eye a verrucous crust which exudes a sero-sanguinolent fluid. On the left half of the face four other gummata are noticed, two of which have already developed into pustules, whereas the other two are still hard. Sub-maxillary lymph-nodes are involved on both sides. A gumma very near the left sub-maxillary lymph-node is full of pus the colour of coffee with milk, as puncture showed. In this part of the face an infiltration of the course of the lymphatic vessels is to be seen. Pus inoculated in the Sabouraud culture-medium gave rise to a pure culture of *Sporotrichum beurmanni.*

Diagnosis: Sporotrichosis of the eye (Dr. LINNEU SILVA).

Prognosis: mild.

Treatment: Potassium iodid.

Sporo-agglutination with the serum of patient (JOLTRAIN's technic) strongly positive at 1:30, weaÅ agglutination at 1:50.

Complement-fixation test. Weakly positive.

Mycological diagnosis: *Sporotrichum beurmanni.*

Case which we owe to Prof. ALEIXO.

S. B. 5081. Name:... Age: 19 years. White, single, labourer. Resides at: Rio acima. Vaccinated. Admitted Aug. 31th., 1917.

Family antecedents. Father alive, aged 48. Mother died 12 years ago. She had 5 children of which 1 died in its first infancy.

Personal history. Patient had measles. He was always weak. He has already suffered from diarrhoea.

History of the present disease. About three months ago, the patient noticed the appearance of a bleb on the mesial surface of the left heel. This bleb was broken open by the patient and discharged some lemon-yellow serosity. The site of the bleb ulcerated soon after.

In the days following, new ulcers formed along the right lower limb. About a month ago he noticed that the flexor group of muscles of the leg went into a permanent contracture.

Present state. On the right the patient shows a chain of ulcerations, beginning at the mesial surface of the right heel and running up almost to the inguinal fold. The ulcerations vary in size. Borders undermined, ground red and irregular, dischargoing a thick yellow pus.

Diagnosis: Sporotrichosis of leg.

Prognosis: Favourable.

Direct examination. Very fine and plentiful spindle-shaped forms are found in all smears examined.

Cultures: positive.

Mycological diagnosis: *Sporotrichum beurmanni.*

Out-patient Dep. 1779. R. M., 16 years, single, washerwoman. Born in Minas Geraes. Lives at Quartel.

Two months ago there began a condition of the nose which produced pain and evil odour. She went to Prof. RENATO MACHADO for consultation and felt better, but the disease has extended to the nasal lobe, in the form of pimples which are itching and painful. Her brothers are healthy, as are also her parents. She has had intestinal worms. Nothing else was learnt from the patient.

Cervical and supra-epitrochleal lymph-nodes enlarged. The site of the lesion is slightly congested (active congestion). On this congested ground there arise a number of excrescences like warts, and varying in size from that of a pin's head to that of a grain of rice. These warts, which are of soft consistence, are covered with a crust which, when, removed, shows a damp but white surface (containing a very small amount of pus), very minutely mamillate. In the parts in which the excrescences are not seen there are scales covering the surface. The nasal mucous membrane continues affected, and *mutatis mutandis* the same lesions are to be seen.

Cf. further: DE BEURMANN and GOUGEROT, op. cit., pages 558, 556, 568, 565, 562, 560.

BROUARDEL, GILBERT and THOINOT: Nouveau Traité de Médecine. Maladies parasitaires communes á l'homme et aux animaux. Paris, J. B. Baillière et Fils. 1910, pages 402, 403, 401.

MALASSEZIA FURFUR

The observations of this fungus are based on about 16 cases of Pityriasis versicolor.

We followed some of the processes indicated in the beginning of this work. It must be observed that we did not obtain even suggestion of growth on culture-media inoculated with material rich in fungi.

CASES OF PITYRIASIS VERSICOLOR.

Case 1.

S. B., student, single, residing in Bello-Horizonte. Squamous areas papular elevations with a geographic outline on chest and back mostly. Inoculations of Sabouraud culture-media negative. The maculae made the skin look as if burnt in certain areas. Lesions circinate, a pale pink, not unoften covered with fine scales. Foci multiple, almost always small. There was confluence towards the posterior part of the trunk chiffly between the shoulder-blades.

Arms unaffected, especially at the lower part.

Neck also unaffected. At the zone of confluence and contrasting with the skin, the appearance of the spots is dark. The spots extend down to the abdomen, where the lesions are few and far between.

Evolution in 6 months. Pruritus moderate. (Sept. 9, 1917).

MYCOLOGICAL DIAGNOSIS: MALASSEZIA FURFUR.

Case 2.

J. C. L., 32 years of age, married, with one son of 14 months. Father and Mother dead. His mother died of a disease unknown to the patient; his father of a congestion of the brain. He has 13 grown-up brothers and sisters. Three brothers died, one during labour and the other two of tuberculosis.

The patient has had chicken-pox and measles. Five years ago he expelled a tape-worm. He has had no other parasitic disease. He does not own to having had syphilis.

Seven years ago he had hematuria and three years ago terebrant colics with intestinal perturbation. He sleeps well and has an excellent appetite. His

present disease began six years ago. It started on the chest. At present it extends over the whole chest, over the back and over the abdomen. The maculae are of the colour of coffee-with-milk and irregular. The appearance is typically that of pityriasis.

With baths the spots are supposed to have disappeared, according to the patient.

Preparations were made and cultures on Sabouraud, the latter negative.

Mycological diagnosis: *Malassezia furfur.*

Observation n. 3.

....., 26 years of age, laborer, white, residing in Curvello.

Parents healthy. He had 7 brothers; one of them died at 35, two are alive. He has had measles, influenza. The pacient says that he has also had soft chancres, yaws, gonorrhoea and lymph-node infection. He also suffers from rheumatism and head-ache.

Of late the patient has been admitted to the Surgery Ward of Prof. BORGES DA COSTA and has undergone an operation for perforation of the palate of syphilitic origin.

Examination of the skin showed: on each side of the back, from the mesial angle of the scapula down to the 1rst. lumbar vertebra. Convergent lines are seen, which meet at the height of the first lumbar vertebra. Laterally the back is covered by one big area of darker pigmentation. In this little circular patches of skin unaffected by the disease in the middle of the space, comprised within the two lines mentioned above, 10 little patches were to be seen, which were conspicuous by their brown colour, contrasting with that of the normal skin. Above this space could be seen some confluence of patches and some parts unaffected by the parasite. On the front wall of the chest the same confluence of patches could also be seen covering almost all the skin.

On hands and arms patches were also found, confluent or isolated and the same may be said for the groin, buttocks and lower limbs.

The disease appeared in the patient about two years ago, soon after he had been given about eight injections of a mercury preparation. From that time they have augmented progressively and were not treated by the patient, since they caused no pain, although they provoked intense itching.

Case n. 4.

....., 19 years of age, single, laborer, Brazilian, from Mattozinhos.

Generalised tubercular leprosy, ulnar nerves thickened, not sensitive. Evebrows swollen. Microscopic examination of the nasal mucus showed bacilli with the characters of leprosy bacilli. Anesthaesia of the lobe of the ear on the left side.

Anamnesis. Father died of heart failure. Mother healthy. Six children are alive and healthy. No other disease is remembered.

About six months ago there appeared macules on the neck. Which afterwards extended to chest, back and arms.

Whitish macules, conspicuously less pigmented than the neighbouring skin, are seen on the neck, especially on the rax, at the back, in an area comprised between the two posterior axillary lines and a little below the waist are seen some more depigmented macules of varying outline, often circular, the highest being bigger than the others. On the right side, and also on the back, there is one clear plaque of irregular outline and other smaller ones, ranging down to the size of a pin's head. On the right shoulder there is one more macule which begins at the back and

extends over to the anterior part, below the.

On the chest there is in front a macule of big size affecting almost the whole extension of a line drawn from one anterior axillary line (a vertical line passing through the front of the axilla) to the other. Below other smaller macules are seen.

On the arms similar but smaller and fewer plaques are seen. Fore-arms free. Scraping these whitish lesions a powder made up of scales from the last epidermal stratum is freed. With a fine pair of forceps it was possible to remove more extensive scales in which examination could be more efficently carried out.

Mycological diagnosis: *Malassezia furfur.*

EPIDERMOPHYTON INGUINALE

The cases which come under this heading in the final statistics are eight in number.

In four of these cultures of the fungus were obtained.

The failure of the remainder is due rather to the conditions of the patients than to anything unsatisfactory in the methods applied. It is caused by the age of the objective clinical symptoms.

Cases of two or three years standing do not as a rule permit cultivation of the funngus.

Besides this it has to be borne in mind that in nearly all the cases patients apply all sorts of treatment to their lesions so that, besides altering the clinical appearance of the lesions, they often affect the vitality of the parasite. An instance of this is the case showing localisation on the feet; this case, of two years standing, had all the macroscopic characters of inguinal epidermophyton-infection, but did not permit cultivation of the fungus. Our case 3 indicates a point to be emphasized, i. e., relapse in this dermal mycosis.

However small the residues of the disease, if it should not have been radically extirpated, the fungus will soon find an opportunity for developing anew in the same or in another part of the body.

The foci of infection must be very carefully extinguished, only in this manner can the disease be dealt with.

The relapses are often the cause of strange localisations of the fungus.

Not long ago RICHARD S. WEISS described in a memoir an unusual localisation of Epidermophyton (1).

CASES OBSERVED

Case n. 1. N. 1818, student, Aug. 24, 1917.

About 20 days ago the patient observed a slight desquamation at the bottom os the left cruro-scrotal fold, unaccompanied by pruritus. Slightly before he had treated himself against Pediculis pubis with mercurial ointment, so that he attributed to the mercury the lesions of the cutaneous tegument of the fold. During the last week he has felt a good deal of itching. At the point indicated, an area, pale in the center and red round the edge, clearly bow-shaped, is to be seen. The epidermis of the central part of the area is practically restored while the periphery, specially within the red bow, shows typical micro-vesicles. No other lesion is observed elsewhere. It is seen that application of a 1% chloroform solution of iodised chrysarobin makes the vesiculation more apparent and it becomes evident that the whole red halo is vesicular; the same is seen almost in the middle of the lesion. The patient before

(1) RICHARD S. WEISS—The Journal of American Medical Association, n, 13, 1917 September, p. 19, V, LXIX.

consulting had already made use of nitrate of silver in a 2% aqueous solution, the only effect of which was to irritate the skin considerably so that the lesion became very conspicuous on account of the red colour it took.

Scales examined in lactophenol show almost immediately: plentiful mycelian filaments, septate, some of them with terminal and intercalar chlamydosporos.

Treatment: Chloroformic solution of iodised chrysarobin 1%.

Clinical Diagnosis: Eczema marginatum of Hebra.

N. B. The lesions described are the ones of the crural fold. Those of the scrotal fold are almost invisible, only desquamation being noticeable.

Microscopic examination: positive.

Culture: Positive.

Mycological Diagnosis: Epidermophyton inguinale.

Case n. 2.

....., 24 years of age, Brazilian, Minas Geraes, residing at Hotel Globo, single, medical student. May 23rd. 1917, n. 1639.

More than a month ago the patient observed a small area on the upper part of the inner surface of the left thigh, not far from the crural fold. It extended excentrically. On the symmetric part of the other thigh, there appeared ten days ago another area. No pruritus on the lesions of the leg, but on the scrotum, on the left side, where a new lesion is starting, there is considerable itching.

Clinical diagnosis: Eczema marginatum of Hebra.

Microscopic examination: positive.

Culture: Positive.

Mycological Diagnosis: Epidermophyton inguinale.

Case n. 3.

....., 24 years of age, brown, policeman. Admitted May 7, 1917, n. 1671.

Anamnesis The patient has already come to consult for the same disease, more than a year ago. Inguino-cruro-scrotal fold with very pruriginous patches. He improved after the first consultation, but was not cured and of late he has become much worse. Other places have since become contamined. Status praesens: on the right inguino-cruro-scrotal region, large erythemato-squamous patches, discretely vesicular round the edges. They extend to a considerable extent along the upper inner surface of the thigh. At this part a big inner part of a patch already cured is to be seen. A certain amount of serosity which has a smell, owing to fermentation, is secreted. Small and minute areolar patches in the vicinity. The left inguino-cruro-scrotal patch is of tiny dimensions. Small patches disseminated on both gluteal regions, very pruriginous, especially after the clothes are removed. On the balano-preputial groove, near the frenulum there is a certain amount of irritation. On the beard there are some patches, which are however discrete. He made one application of chrysarobin, only on the pudenda. This application, as was to be expected, irritated the lesions considerably. Besides the localisations already mentioned, numerous desquamative lesions of a very pruriginous nature are to be found between the toes on both feet.

Treatment: Zinci oxidi	4 gm.0.
Boricinae	4 gm.0.
Axungiae benzoatae	50 gm.0.

This after an application of the chloroformic solution of chrysarobin.

Clinical diagnosis: Eczema marginatum of Hebra.

Cultures with material from the inguinal lesions negative; positive with scales taken from the lesions between the toes.

Mycological Diagnosis: *Epidermophyton inguinale.*

Case n. 4.

O. N. L., 22 years of age, white, residing in Minas Geraes, rua Carijós, single, student, August 28, 1917, n. 1829.

Anamnesis. About 2 months ago the patient observed an eruption on the inguino-scrotal skin, at first slightly squamous and becoming red after a time which he attributed to his having applied soap, mercurial ointment and Helmerich's ointment. Pruritus extremely intense, specially at night. Objectively a red inflammatory patch, squamous and with its edges relatively little coloured in comparison with the center, is to be seen. The scrotal patch is more squamous than that of the thigh.

On the side of the thigh of the cruro-scrotal fold is seen, a circinate lesion with edges more squamous, redder and slightly microvesicular, and, on the scrotal side, another circinate lesion with squamous productions. On the lesions of the left side no vesicles are seen, as can be proved with chloroform-iodine-chrysarobin. On both sides traumatic dermatitis, with small furuncles and follicular lesions.

Clinical Diagnosis: Eczema marginatum of Fonseca.

Microscopical examination: positive.

Mycological Diagnosis: Epidermophyton inguinale.

Case n. 5.

N. B., 19 years of age, white, Minas Geraes, residing at rua Sapucahy n. 445, single, employed in business. Feb. 20th. 1918, n. 2069.

About a year ago he observed the appearance of some very pruriginous patches on the left side of the thigh facing the scrotum. These patches progressed until they occupied the sites in which they are now seen.

Status praesens: On the left inguino-crural fold, a large patch with a non-coloured center and festooned edges which are reddish and slightly scaly with adherent scales. A smaller patch on the right side. Pubic patches hidden under hair. Two circular patches on the left thigh. In none of these patches is there real vesiculation but only traces. Discrete secondary lesions of the skin on pubis. Gonorrhoea. Left mesial inguinal lymph-node swollen and hard. No hard chancre at present. He has already treated the patches with iodine.

Microscopical examination of scales: positive.

Clinical diagnosis: Eczema marginatum.

Mycological diagnosis: Epidermophyton inguinale.

Attention must be called to our observation n. 3, of which an illustration is given. (1).

Two other photographs are also reproduced corresponding to cases 1 and 4.

Of the ringworm group, cultures of *E. inguinale* are those which most readily appear with a pleomorphic aspect.

Already SABOURAUD had mentioned what he rightly called lesions of old age. (2)

According to our way of thinking, this question of pleomorphism is really far more complex than is ordinarily thought. We may some day return to the point with more detail. At present we shall content ourselves with reproducing our photograph n. 4 (the 16th. of the general set of photographs) of a culture obtained by inoculation in a culture-medium of scales from the axilla.

Culture n. 1 (18 of the general series) is a growth of ten days; photo n. 2 (17th. of the general series) in an Erlenmayer flask, in which is seen, in the common form of beginning pleomorphism spite of the great developmen of the culture.

---

[1] Photographia n. 15 da serie geral.

[2] Les Teignes. [Masson et Compie., Editeur]. Sabouraud. Paris, pag. 412, 1910.

Repeated reinoculation into appropriate culture-media may obviate this drawback. There are times when with four days growth nothing can be made out in the growths.

At first the culture is light-coloured, fluffy round the edges, and some umbilication is seen. Later the umbilication transforms itself into symmetric grooves looking like a maltese cross.

Subsequent growth of the fungus, however, modifies this aspect into yet another, i. e. that of real furrows or circumvolution without symmetry, in which often pleomorphic white fluffy flakes are appearing (Phot. n. 17 of the general series).

Peripheric irradiations of the growths reach, after some time, the internal borders of the flasks. Pleomorphism, which may be seen within the first new days of growth, may also show itself at the 22nd. inoculation in culture-media of the fungus. SABOURAUD (1) describes the culture of *E. inguinale* as having at all times a lemon-yellow colour.

The general and constant colour of the cultures with which we worked was a dirty white.

But we do not for that matter think ourselves entitled to a «new species».

Already in a former chapter, we have given our opinion on this question of pigmentation.

We have yet to mention direct examination of human material for diagnosis. The most important characteristic which dominates this question in that of the intense polymorphism of the fungus in human material.

This is yet a confirmation of what SABOURAUD (2) with his usual authority asserted when speaking of the species diagnosis and the differential diagnosis.

(1) Ob. cit. pag. 442.
(2) Ob. cit. pag. 438-439.

TRICHOPHYTIA

We will next describe a case of trichophytia of the beard seen in the ward for skin and venereal diseases directed by Prof. ANTONIO ALEIXO. This was the first time a case of trichophyton-infection was seen in this city, at any rate by us. The case is as follows:

Case Report: C. C., 21 years of age, white, italian, residing at Matadouro, single, cartdriver, working for the local lard-packing plant. He was admitted May 5, 1917, and registered as n. 1608. The patient states that fifteen days ago he went to the barber and two days later noticed a round patch of 2 cm. of diameter and pruriginous. While this primary lesion was yet developing, the patient was noticing, about three days later, the appearance of fresh lesions. The primary patch was somewhat painful.

Symptoms now present: The patient shows a patch which measures 6 cm. (antero-posterior diameter) by 5 cm. (vertical diameter) near the right parotid region. This patch is of an erythemato-pustular nature and covered with crusts. Its shape reminds one of two confluent circles. Pustules and crusts are more numerous in the central part, in which there would seem to have been a recrudescence. The periphery is clearly outlined by an epidermis finely desquamated. The hairs show no macroscopical evidence of disease. No alopecia is seen in the vicinity. Only small and minute elevations, rather scaly than vesicular, are to be seen. Behind the ear a patch of a larger scale is seen. At the confines of nose and cheek a patch of about 2 cm. in diameter, approximately, and circinate, with a central area of normal appearance is seen. Lesions seen at edges are not continuous.

The principal patch, after the first application of X-rays, during 10 minutes, became elevated and gave evidence of a subcutaneous suppurative process. There was discharge of a good deal of pultaceous material.

MICROSCOPICAL EXAMINATON

Microscopic examination of material taken from the lesions showed, in the hairs an ectothrix trichophyte with large spores, in rows not easily distinguished and making up almost the whole of the sheath in which the hairshaft was enveloped. The hairs, when pulled out, broke of fairly low down but brought with them the sheath which was whitish and thick.

There were spores of large dimensions and some rows of more or less regular spores. The hairs examined showed more or less the appearance seen on fig. 178, entitled «*T. equineum* MATRUCHOT autour du poil et dans le poil humain», of SABOURAUD's book, Les Teignes, Paris, 1910, page 250.

CULTURES

On Sabouraud media with malt-sugar, glycose and with unrefined sugar (molasses), cultures resembling closely those of *T. crebriforme,* and, at other times *T. asteroides,* were obtained. On simple and on glycerin-potatoes a damp growth of yellow ochre were seen.

At present, on reinoculation of SABOURAUD's medium with glucose with material from one of our former culturs, a form of the fungus was obtained reminding one of *T. effractum.* This shows once more the uncertain nature of external appearance of the fungi and the difficulty of diagnosis with the unaided eye of cultures grown on the usual media.

Examination of cultures, i. e., of fragments removed and dissociated in lacto-phenol, showed us broad or medium mycelia septate at short intervals, some of them looking like the racket-shaped mycelia of the microspora, intercalate and terminal chlamydospores, conidia.

With the aid of the disposition of the parasite on the hairs and its characteristic culture on potatoes it was possible to classify this parasite. It is certainly *T. equinum* MATRUCHOT et DASSONVILLE. This became still more evident after the following fact.

While still under treatment, the patient noticed certain lesions on the fur of the animals with which he worked.

We were fortunate enough to be able to examine *de visu* the animals with the disease.

The lesions were typical lesions of tinea tonsurans.

The barber could thus be exempted from the blame with which he had been shouldered owing to ignorance of the animal origin of the condition caused by the fungus.

To this report we may add a photograph of the culture of the parasite on glucose SABOURAUD. Nineteen days' growth, Phot. n. 1.

MICROSPORUM INFECTIONS

During the year of 1917 and some months of 1918 and during a like period of 1918 and 1919 we had the opportunity of seeing, besides cases of Sporothrichosis, Favus and some other mycoses, a few cases of Microsporon-infection.

But from the outset it will be well to point out the difficulties encountered at the beginning of our studies, i. e. our inability to obtain crude malt-sugar, so necessary to the growth of these fungi.

The material studied consisted not only of hair taken from the microscopic patches of tonsured, but also of scales taken from the erythemato-squamous

patches which marked the site of inoculation of the fungus on the skin.

For this examination we used mostly AMANN's lactophenol which is an excellent fluid, we find, for this kind of examination. Staining was not often resorted to. When it was made use of, we carried it out according to BIZZOZERO and FIRKET's technic. Besides this, caustic potash at 40% with subsequent heating was also applied.

AMANN's lactophenol not only keeps the preparations very nicely, but also makes them quite clear and gives a very good differentiation of the fungus. It would be of great advantage, if a substance for framing the cover-glasses less soluble in the fluid could be found. The substance used by us, a mixture of bees wax and rosin, diffuses in the conserving-fluid and darkens the preparation, which becomes difficult or impossible to examine. This point should be a matter for further research. It ought not to be very difficult to avoid this drawback the prevention of which would seem to be already under way, with the use of a new mixture of lanolin and rosin, which ought to be less friable and diffusible than that of Krönig's.

Culture-media used were: Sabouraud with glucose and maltose, potato and Sabouraud's medium with unrefined molasses.

In the latter, however, pleomorphic forms are rather prone to appear, which are very discouraging for those who are studying these fungi.

Immediately after epilation we took care to examined the hairs.

The technic used was the following:

1. Epilation. A small forceps was used for epilation.

With this the hairs could be easily removed from the central part of the microsporon-lesion or patch and from the marginal parts or edges.

2. Next the hairs removed were placed between two glass slides previously washed and sterilised in a spirit-flame. The hairs were left until examination was performed.

Scales were simply lifted off with the edge of a surgical knife and placed in the same way between slides pending examination.

The appearance of these hairs when pulled out with forceps or with the finger nails is very characteristic, and we need not go much into its description. For the latter the reader may be referred to SABOURAUD's description on pages 147 and 148 of his book (1). It was not always easy to obtain hair-shafts as the hairs are very brittle. When it is possible to get a hair, it has generally lost its bulb.

This is a not unknown fact and SABOURAUD describes it at great length in the book we have quoted.

As a precaution we placed in the same microscopic preparation several fragments of hair. In this manner it was possible to follow in one microscopic preparation the distribution of the parasite along the whole extension of the hair.

Once three or four pieces, entire or otherwise, of hair had been placed on the slides, a few drops of AMANN's fluid were added. Next the preparation was slightly heated and after getting rid of most of the air-bubbles the preparation would be shut, as well as possible, under cover-glass.

The technic of preparations with potash, of staining and so forth is too well known for us to enter into the matter.

CASES SEEN

From February 1917 up to date (Oct. 1920), we have had the opportu-

(1) Les Teignes, op. cit., 1910.

nity of studying 24 cases of microsporon-infections which fall in the following groups:

M. Lanosum..... 18
M. Audouini..... 5
M. felineum..... 1

CULTURES

Cultures of this fungus exact very often the most elaborate work.

Not infrequently it is impossible to identify the microsporum by direct examination alone.

When the organisms are found on parts without hair, the question must generally be resolved by culture.

This is what we have tried to do, obtaining good results, in spite of the difficulties already pointed out.

Inoculations of culture media were made into Erlenmeyer flasks and were subjected to careful scrutiny every day.

From the report of these observation we may draw the following inferences:

1. The growth attains a size already worthy of attention from the third to the fourth day.

2. The maximum growth is reached between the fifteenth and twenty-fifth day of the growth (and averages 6 cm. by 14).

These results were obtained on the SABOURAUD's malt-sugar culture-medium (the classic medium). The same thing is to be seen on SABOURAUD with glucose or with unrefined molasses.

Cultures of *M. lanosum*, inoculated on the latter, do not show pleomorphic forms, if case be taken to reinoculate them every fortnight or at most every twenty days.

Pigment-formation is not rare among these fungi.

In *M. lanosum* occasionally a pink pigmentation was seen and sometimes a dirty white coloration.

In cultures of *M. audouini*, pigmentation is at first grey and afterwards yellowish brown, the colour of carrots. This pigmentation is most characteristic on potatoes.

However this character, as we cannot repeat too often, is one of the most inconstant in cultures, not only of hyphomycetes but of fungi in general.

Cultural pleomorphism is extremely common in spite of most care to avoid it.

Wherever possible every method and every resource should be resorted to in examining and classifying microspora. Long experience with these fungi has led us to this opinion.

When ever possible, also, the «classic» culture-media should be made use of.

As to the liveliness of growth, we were not able to observe anything new.

It seemed to us that *M. lanosum* developed just as quickly as *M. audouini*.

SABOURAUD's experience which is contradictory in this respect, must be accounted for by different athmospheric conditions (of heat and dampness, for instance).

Here, in Bello-Horizonte, the temperature does not vary much and oscillated very little during the time we observed.

Oscillations are rather insignifcant when compared with those of the Old World.

Hence, perhaps, temperature is of slight influence in the growth of fungi, although more important than altitude.

The influence that height might have on the development of fungi and principally of parasitic fungi has already been investigated long ago. Recently in a paper on phytopathology J. DUFRENOY (1) studied comparatively

(1) J. DUFRENOY, Bull. Trimest. de la Société de Mycologie de France XXXIV, 1918, 8.

with special detail the parasitic fungi in high places and on the plain.

Disease, i. e. parasitism, was found at all heights with the same intensity, provided that the host were present. This was the author's chief conclusion.

Greater, however, than athmospheric conditions or altitude, appears to be the influence of civilisation on certain parasitic fungi. Urban centres are poor in mycotic affections. Rural centres and country places have a great abundance of them.

This was shown strikingly by the experience gained during the Great War.

Subjects, up to then unattained by pathologic conditions due to fungi, became infected with a great number of fungi, after they had been exposed to the hard experience of life in the trenches, in constant contact with the soil (1, 2, 3).

Perhaps later we may have a chance to go into these matters.

Our cultures were always kept at the temperature of the surroundings; in no case was it necessary to make use of incubators (neither for microspora or for other fungi).

As to the morphologic appearance of cultures there is something to be added. Let us take *M. audouini* as an instance.

In the first days the culture on SABOURAUD's culture-media with malt-sugar is without any fluff, of a pure white, and, as it becomes older, the appears more compact and shorter, and less pure white, of a greyish white. At the same time as development takes place, three or four grooves divide the culture in a number of segments. As cultures grow older a new set of grooves appears between the former and divides the culture anew. This is the classic process in *M. audouini*. For greater clearness photographs of cases 1672, 1671 and 1730 are given. (Phot. 22, 23, 24).

As to the appearance of *M. lanosum*, nothing more need be said. The centre of the culture is umbilicated. The woolly ring forms a prominent elevation round this umbilication of a pure white colour which becomes yellowish, as the culture grows old. The periphery of the culture is formed by a set of irradiating grooves. Over the whole growth there is a delicate and grey fluff (on SABOURAUD's medium with malt-sugar). On the glucose medium the culture is also woolly, but irregularly so, not in a ring as on the maltose medium (cf. phots. 26, 27 and 28 which complete this description). In phot. 25 a pleomorphic form is to be seen.

MICROSCOPIC EXAMINATION OF CULTURES

This examination was carried out with the following conditions:

1) In a hanging drop, in Boettcher's glass cell;

2) In fragments of culture dissociated in AMANN's lactophenol;

3) After fixation of smears of cultures and colouring with GIEMSA or and Gram stains;

4) In the growth on the walls of tubes.

The fourth process can generally be used to substitute the first, which is more difficult to put into practice, with the care necessary to avoid contaminations. It is very easy to observe the disposition of hyphae in this manner. Nothing is easier than to place the tube in which the material has been inoculated under the objective of the

(1) TUFFIER p. p. Annal. Société de Chirurgie, June 13, 1917.

(2) E. ANTOINE, Annales de l'Institut Pasteur, Paris, Mai 1911, n. 5 page 202.

(3) RONGER et PELLISSIER, Annales de l'Institut Pasteur, 1914, Nov.

microscope. Focalisation is not difficult.

Compensating oculars 8, 12 or 18 with objective B of ZEISS are of great value. In this manner we were able to study the sterile diverging filaments, the spindle-forms at their first stages or massive dilatations of more or less granular surface and rare. In the hanging drops we could observe a middle zone, bearing erect filaments of a slightly fusiform appearance at one extremity, a peripheric zone made up or radial filaments, which were creeping and sterile, and a central zone in which small erect hyphae could be seen arising from delicate, caducous, piriform conidia. Summing up we might say that in *M. audouini* grown in hanging drop, as in the description, given, we were able to observe nothing but what SABOURAUD had already seen. The same hyphomycete observed in the 2nd. condition with more powerful magnification (object. E, dry, and comp. oc. 4 or 8) showed us besides the spindle-shaped organs, full of granulations but not septate, the various forms of mycelium, i. e. the straight, the racket-shaped, spore-bearing hyphae with external conidia, with lateral ramifications and bifurcations and sterile, spore-bearing hyphae. There are also chlamydospores. Besides these, pectinate hyphae are clearly seen in these preparations.

In cultures of *M. lanosum* on hanging drop we saw the following: compact central part from which emerge numerous more or less straight, creeping mycelian filaments. This central part is made up of compact mycelium, bearing on slender and curved peduncles a great number of spindles easily seen with low power. With greater magnification, the appearance is more attractive with straight, septate mycelia, a great number of small and large spindles, like leaves and varying in size and number of compartments loci. In fragments of culture dissociated in lactophenol, we observed besides these, intercalar and at times intercalar chlamydospores, and spore-bearing thyrsi.

In certain cultures, as for instance in case 1943, spore-bearing thyrsi were more plentiful than spindles, a fact in disagreement with SABOURAUD when he says: «*Les fuseaux sont bien plus nombreux dans les cultures que les thyrses sporifères*». (1)

We observed that certain spindles, when looked at from above, i. e. when their extremities are brought nearer, assume a spherical form, compressed at the poles resembling a blastomycotic cell, full of granulations, and with disappearance of the loci (Cf. preparations from the culture obtained from case B. P.).

LOCATION OF MICROSPORUM LESIONS.

Based on our observation we may classify them summarily under the following heads:

1. Lesions located on the scalp;
2. Lesions located on the skin;
3. Lesions located at the same time on scalp and skin or mixed location of lesions.

On beard and moustache we were unable to see a single case. The first type is the more commonly seen and is the microsporous tonsurans. Clinically we were unable to differentiate ring-worm caused by *M. audouini* from that caused by *M. lanosum*. The lesions consist of small patches, or of medium and at times large patches covered with greyish scales with a few or no healthy hairs left on its surface. When hair-shafts are found, they are

(1) Les Teignes, op. cit. page 678, 1910.

brittle, greyish, enveloped in a sheath. The appearance is characteristic.

In some cases the patches are accompanied by reddening and irritation of the neighbouring parts. Others showed a great number of small patches more or less spread over the scalp.

Cases in which irritation was an evident feature were those of long-standing.

In agreement with SABOURAUD, the evolution of these lesions may be divided in two periods. The first is characterised by the appearance of microsporous patches and in the second there appear inflammatory manifestations. Microsporum patches do not grow indefinitely. When they get to a certain point they halt in their development and at most they attain a size of a circle an inch in diameter. In this part of the body it is rare to see only one patch; almost always there are two, three or more of them (See photographs n. 29, 30, 31 and 32 and case reports n. 1 and 1 A).

In view of the nature of this paper we need not go into the details of these lesions any further.

2. Location on the smooth skin. This location is extremely common here in Bello Horizonte. The lesions show themselves as erythemato-squamous patches, not or very little pruriginous, with orbicular, circular or at times circinate with several rings, limited by a reddened squamous edge, the centre slightly beset by adherent scales.

With this location on the smooth skin alone we can present the following cases, whose aetiology has been made sure by microscopic examination and culture.

CASE REPORTS

G. P., registered at the Policlinic on June 17, 1918, Brazilian, residing in Bello-Horizonte, school-girl (Case n. 2).

Family antecedents see case n. 3 of this patient's sister.

As to the patient's own history she mentions suffering from various intestinal affections. Five days ago she noticed a small patch on the left side of the neck which was almost cured. Afterwards on the same side, at the back of the neck another patch. Examination shows on the back of the neck an erythemato-squamous, pruriginous patch. Of the primary patch there are no traces left.

Diagnosis Trichophytia (?).

Mycological diagnosis: *M. lanosum.*

Case n. 3.

B. P. June 17, 1918, 7 years of age, white, Brazilian, residing in Bello Horizonte in the quarter of V. de S. Vicent, school-girl. Has had gonorrhoea and syphilis.

Personal history. Has had abscesses, inflammatory affections of the skin, intestinal affections.

History of the disease. Five days ago the patient's mother noticed a lesion on the right shoulder and three on the patient's legs. These lesions soon multiplied. In searching for the origin of these patches it is noteworthy that in the neighbourhood there lived a sick cat and in the same house another cat which already showed cutaneous lesions.

Present symptoms. On the left shoulder an orbicular patch of about 2 cm. in diameter and erythemato-squamous.

On the two thighs are also several conspicuous orbicular patches, encircled by erythemato-squamous edges. In some patches a central erythemato-squamous point is also to be seen. Pruritus inconsiderable.

Clinical diagnosis: Tricophytia (?)

Mycological diagnosis: *M. lanosum.*

In this and in the preceding cases the origin of the parasite is in all probability from an animal. In this case the fungi were obtained from cats, from

the one of the house or from the one of the neighbourhood. There was yet another patient from the vicinity, which we also had the opportunity to see and who showed exactly the same appearance as the ones described. Patients of cases 2 and 3 are sisters.

Case n. 4.

S. de P., one year and four months, white, Bello Horizonte, Barróca, November 14, 1917, n. 1946. A few days ago there appeared a lesion on the left arm. In the same house a man and a boy also had the same sort of thing. The baby does not report any itching.

On the dorsal surface of the forearm a circular patch 2 cm. in diameter, and progressing excentrically, is seen. The periphery is marked by vesicular productions and in the centre the skin is normal. The patch is perfectly circinate and shows itself as a reddish, slightly squamous and vesiculous ring. Nothing was found elsewhere, not even on the head.

Clinical diagnosis: Trichophytia (?).

Mycological diagnosis: *M. lanosum.*

Case n. 5.

M. de C., one year and seven months. Brazilian, Bello Horizonte. About fifteen days ago there appeared a lesion on the face, with some itching. Next there broke out similar lesions on the chest and arms, causing a good deal of itching. He believes that his disease arose from that of a cat, which appeared at his place, very much emaciated and covered with patches of alopecia. On the face, especially on the right side, there are patches, some of them minute, pin-pricked and squamous. Other larger ones, with a squamous, circular edge surrounding a centre of nearly normal skin, which is more opaque. The largest are the size of a collar stud shirt-front button. Some of them are circinate with the circle incompletely closed. On the palmar surface of the elbow there is a papular efflorescence, about 5 cm. in size, with thickened edges and a depression.

On the right arm there are three patches. On the left there is one and a point. On the back a number of them are to be seen like acne. On the scalp there are none. No evidence of syphilis or of any other disease is found There is no clear vesicle-formation.

CLinical diagnosis: Trichophytia (?).

Mycological Diagnosis: *M. lanosum.*

Case n. 6.

....., 3 years old, white, Brazilian, residing in Bello-Horizonte, Rua Curytiba 763. April 27, 1918, n. 2156.

Eight days ago there appeared on the child's arm a pruriginous patch. This child was always playing with the little patient n. 2155 of the preceding case-report. It is not known however if contagion took place from human being to human being or from animal to human. This child also played with the cat already mentioned in case-report 5. The parents of this patient are healthy, as is also the patient. The child shows a very clear circular patch on the left arm.

The center of the patch is scaly, but without detached scales; it is opaque, pleated, limited by a circle of adherent scales, outside of which is seen a pink halo slightly raised and falling of from the centre towards the periphery to the level of the surrounding skin. The thickness is of about one millimetre.

Clinical Diagnosis. Trichophytia (?).

Mycological Diagnosis. *Microsporum lanosum.*

From these cases one may infer that locations on the surface of the naked skin are not uncommon. As to the origin of the disease, it is probably obtained from animals, chiefly from cats as in case nº. 2, 3, 5 and 6. Contagion

from man to man is proved by case n. 4. Contagion from animal to man may also be seen in cases n. 2, 3, 5 and 6.

The third type, i. e. the mixed type, may be seen readily, by a glance at photographs n. 33, 34, 35. In nº. 13 are seen microsporum-lesions of the scalp at the occipit and in n. 14 and 12 lesions of the skin surface are clearly seen.

Of this type I will report the following cases:

Case n. 7. (Photographs n. 33, 34 and 35.

A. A., 5 years old, brown, Rua Januaria 1730, Brazilian. At school the disease is not reported. He became ill before the others. In April he noticed a pruritus on the skin. With this feeling a patch which became reddish put in it's appearance. This lesion then appeared all over the body, the last one to appear being the one of the scalp. He says that the patches were at first red. Of late he had been treated with a preparation of camphor and alcohol, prescribed by a medical student. On the forehead the patient has a large patch over the right eye-brow and a smaller one over the left. On the face there are several others. On body, leg and arms, several others.

On the occipit, at the right side, there is a patch of about 2 cm. in diameter, with the hairs clipped short. Many pieces of hair-shaft show typical ringworm lesion. Production of small greyish scales. On the naked skin it is not easy to say that the hairs have been clipped, but a fine desquamation, as if follicular, is seen. The patch on the head has no odour. Broken hairs are easily pulled out. From the periphery the hairs are long.

Clinical Diagnosis: Microsporia.

Mycological Diagnosis: *M. audouini.*

Case n. 8. J. de L., 9 years old, brown, State of Minas, Bello Horizonte, residing at Floresta n. 240. Does not attend school. Feb. 28, 1917, reg. n. 1298.

About two months ago, or a little earlier, he noticed on his neck a very itchy patch, followed by other patches on face and scalp. The mother of the patient says that he already came ill from Ponte Nova, where he was born. She says that some time ago, at Ponte Nova, two of his brothers had the disease but readily overcame it She says that on the ranch on which they lived lots of people had these patches. Pruritus intense. The little boy is very pale and frail-looking. On the face and neck are seen circular or oval patches, pseudochromic on account of the dulling caused by the fine desquamation. On the head there are patches of alopecia about 2 cm. in diameter, circular, with the hairs broken of at the root.

The mother had only one miscarriage. On the patches of alopecia there are plenty of squamous and vesicular productions. The patches of the face and neck have in some parts visible scales. On these patches the hairs are still present. Material was taken for direct examination and cultures.

Clinical Diagnosis. Tinea tonsurans Ringworm of the scalp.

Mycological diagnosis: *Microsporum lanosum.*

Case n. 9. C. S., 5 years of age, white, Minas Geraes, Bello-Horizonte, pupil of the Kindergarten, was brought to the service on April 13, 1917, registered as n. 1681.

About 2 months ago he noticed several patches on the head which were treated by various remedies advised by druggists, without avail. No itching, pain or general symptoms have been elicited.

At present a patch is seen of 3 cm. dimater on the left fronto-parietal region, with clear, salient edges, hairs broken of short and covered with the ty-

pical sheath, easily plucked out with pincers and covered with greyish-white scales. The patch has an inflammatory appearance, probably due to the treatments applied, with tendency to vesicle-formation. There is another tiny patch at the vertex and another still smaller one on the occiput. There is yet another patch on the naked part of the nape. Over the cheek-bones, there are suspicious looking scaly-patches: (cf. phot. n. 10 of the lesion of the scalp).

Clinical Diagnosis: Tinea tonsurans.

Mycological Diagnosis: *Microsporum Audouini.*

These are the most clear cases of the mixed typed which I wished to reproduce. Cases 7 and 9 were due to *Microsporum Audouini* as was proved by the cultures obtained, by examination in hanging-drop preparations and by the examination of hair-shafts and scales.

As is to be seen from the cases examined up to now, the lesions caused by microspora are at time pruriginous, at times not.

We will next reproduce some case-reports of type n. 1, that is of lesions exclusively located on the scalp.

Case n. 10. J., 5 1/2 years of age, Minas Geraes, Bello Horizonte, School for infants. Brought to this service on June 13, 1917. Reg. n. 1682.

More than 2 months and 15 days ago a patch was noticed on the vertex, without any pruritus or any special coloration. He was treated by a druggist without success. At present there is at the vertex a scaly patch, 3, 5 by 3 cms. in diameter, hairs clipped close. It is very little elevated. About ten patches of all sizes, spread over the scalp, often ill defined.

Clinical Diagnosis. «Tinea microsporica» (Ringworm of scalp caused by microsporum).

Mycological Diagnosis. *Microsporum Audouini.*

Case n. 11. R. J., 5 years of age, white, Minas Geraes, Bello Horizonte, rua dos Cahetés (in shacks existing in this street) n. 1672.

Three days ago her grandmother (her mother is in the ward with Pemphigus foliaceus) noticed a crown on the head of the patient, but was unable to say when it had first appeared. She states, however, that ithis must have appened within the last month. The little girl is unable to say whether it itches or not. It easy to infer that, if there is any pruritus, it must not be verv intense. She has has had no other diseases. One of her brothers died from burns. Patch rigorously circular, about 2 cm. in diameter; it shows almost over its whole surface the hairs clipped off at from 1 cm. to 5 mm. from the surface. Many fragments of hair shaft are hidden below the scales, which are plentiful over the surface of the tonsured patch. Scales are greyish. This patch is on the vertex. There is a tiny patch hidden away under the hairs of the occiput. This patient has a little brother registered as n. 1671 in this serviee, for the same disease with the same location (case which I think unnecessary to reproduce).

Clinical Diagnosis. Tinea tonsurans.

Mycological Diagnosis. *M. Audouini.*

Case n. 12. years of age, brown, Minas Geraes, Bello-Horizonte. Rua dos Ottoni. Nov. 12, 1917. N. 1943.

She has had an affection of the scalp for about a month. At present many patches of uncertain form. Patches of alopecia are seen, in which the close-clipped hairs are not visible. When plucked out the hairs show the typical sheath.

Clinical Diagnosis. Microsporum Disease.

Mycological Diagnosis. *M. lanosum.*

Case n. 13. O. M., 8 years of age, brown, Minas Geraes, Bello Horizonte,

residing at Rua do Ramal. Does not attend school.

Came to the service on April 26th., 1917, reg. n. 1692.

There is already some time since there appeared on his head a white pruriginous patch, in which the hairs began to fall out. A patch is to be seen in the right temporal region. In it the hairs close-clipped. It has no special odour. The patch is covered with grey scales, easily lifted off. The patch is circular and of about 2 cm. in diameter. The patient stil feels a great deal of pruritus.

Clinical Diagnosis. Microsporum Ringworm.

Mycological Diagnosis. *M. lanosum.*

This patient is a brother of the one registered in the skin and syphilis service as number 1942. His case is described in case report 14, which I will not reproduce here.

Case n. 15. M. M., brown, brazilian, residing in Bello Horizonte, Rua Pouso Alegre, school-boy.

Entered the Service on Dec. 12, 1917, reg. n. 1995.

Abouth a month ago the patient noticed that the hairs began to fall off from a certain patch on his head. A few days ago h, noticed that new foci were being formed. The skin in these places is thickened and covered with scales. There are a few hair-shafts in these clearly defined patches. Hairs close-clipped, with the characteristic sheath. There is no special odour.

Clinical Diagnosis. Microsporum Ringworm.

Mycological Diagnosis. *M. lanosum.*

Besides these cases, of which more or less complete reports are at hand, I obtained cultures of *M. lanosum* and positive evidence by microscopical examination in cases n. 16 (J. H. M.) of which a photographs is given (Phot. n. 8), in which for the first time I noticed a peculiar odour, like «the smell of rat's nest» which is almost always felt in cases of patients suffering from *Achorium schoenleinii;* n. 17, J. L. M., brother of the former (n. 16) and of n. 18; n. 18 (C. R. M.) brother of the former. In these cases cultures of *M. lanosum* were obtained.

In the house of these three last patients there was a real family-epidemic. The reports of these cases are registered in the book of the Out-Pa. tient Dep. for skin. Diseases and Syphilis (Prof. A. ALEIXO).

MICROSCOPICAL EXAMINATIONS OF HAIRS AND SCALES

Microscopical examinations should be made early, so that the best results be obtained. In more recent lesions, it may be asserted, it is always easy to show up the parasite. In older ones, however, repeated examination may be necessary. Even so, at times only a scant filament of mycelium is to be seen, and more often than not, after examinations repeated once, twice, three times, results are entirely negative. And thus one more negative result is applied to material from lesions which we know only too well to be caused by the fungus. As to methods, nothing more need be said. It is generally known and applied daily in this class of examinations. Once more let it be said that microscopical examination should be made shortly after the preparation is ready. The enclosing material *(lut)* used at present still leaves much to be desired, so that, if after a time the preparations are examined, the predominant appearance is that of a hair shaft from ringworm (there are plenty of air-bubbles). This is a probable source of error.

In a general way all hair-shafts examined show a great abundance of spores, at times ectothrix, at times endothrix. At times they are grouped in more or less isolated islets, in which about twenty to a hundred may be counted,

or, as happens not unoften, six to ten. Mycelian filaments are not always clear and easily seen, but in some hairs they show up very well and can be followed along a smaller or greater extension. At times they perforate the hair and come out. In these cases they can be examined in detail using principally Sahli's blue which, without being first-rate, is one of the stains which must be made use of. With this process, at times metachromatic grains are to be seen within. Spores are, at times round, globose and oval, at times square, losenge-shaped etc. These forms are brought about by the pressure brought to bear by spores lying near each other. They are also at times big, at times small. In some cases the giant-mycelia so well described by SABOURAUD are seen. In many instances the mycelia are not to be seen. At times the hair shaft is completely deformed at its extremities, in the middle, near the bulb etc. At the places in which the shaft is broken, real penicillate formations are seen in the hair. At times the hair-shaft, retaining more or less its structure, shows in certain places,..... as if it changed gradually or abruptly as to thickness. It is rare to see a completely regular shaft. In the scales from the scalp there is always to be seen clearly an infiltration by leucocytes.

In some hairs, the preparations of which were examined immediately after mounting, I was able to see, like in the hair with favus, an enormous number of air-bubbles.

In the scales from the epidermal lesions, from the naked skin, it is not always possible, as has been already stated, to find the parasite. Only in fairly recent lesions is this possible. In cases n. 2 and 3 it was extremely easy. In these scales could be seen a broad, septate mycelium, irregularly anastomotic, reminding one of the appearance of the trichophytes and also of *Epidermophyton inguinale*. I only came to a conclusion as to its determination after several reinoculations on SABOURAUD's culture media with maltose, glucose and crude molasses. The same thing happened in the case in which the air-bubbles were seen, like those seen in hairs with favus.

To sum up, microscopical examination is not sufficient by itself in the diagnosis of microspora; as often as possible culture-media must be inoculated so as to resolve the problem of their determination. Cultures in hanging-drop and direct examination of cultures are indispensable.

In the case of *M. felineum* the animal origin (cat) of the parasite was made clear.

There is one more fact that should remain of this survey of cases of Microsporum disease.

Not one of the patients was above 12 years of age.

ACHORION SCHONLEINII

I had the opportunity of studying four cases of Favus since February 1917.

I reproduce the following case-reports which are of some interest.

Case 1. M. A., ten years of age, brown, brazilian, residing in Bello-Horizonte, vaccinated, registered in this service as n. 18, 1918, attends school.

The mother lived with a syphilitic subject. She is undergoing treatment by mercury. Four years ago there appeared on the patients head an eruption of a yellow colour «resembling» says the patient «honey». There was nothing on the skin. The patient had not submitted himself to any serious treatment. The disease spread until at some day he had lost all his hair. He did not transmit the disease, to his four brothers, nor at school. At present there is an extensive zone of alopecia occupying the

(1) See Photographs 26 and 27. Pleomorphic forms of *M. lanosum* and *M. audouini*.

upper part of the the head (between parietal regions and vertex), leaving here and there tufts of hairs some of which are glued to crusts, which have replaced the pustules. Pustules are plentiful and contain a more or less thick pus. Some are clearly peri-follicular. On the right side the patch descends on the temporal region, only scales being seen together with the same appearance of alopecia. Another similar patch is found below and behind the vertex and another above the right ear. Tiny patches are spread about. The hairs are not easily pulled out.

On May 22nd., upon careful examination of some of the more recent patches, I saw that they were made up of a number of pale discs which the hair-shafts pierced. These were not found clipped. There is a very characteristic rat-smell. Hair-shafts pulled out bring sometimes the discs, in which a small depression is sometimes seen at the site of the follicle. Other larger discs can be seen with goblet-like depressions. On June 4th., 1918, a biopsy was made from the fronto-occipital region. (Cf. fig. phot. 38 for a better idea of what is herebriefly sketched out).

Case n. 2. W. S., 11 years of age, white, Brazilian, residing in Terras Novas. Was admitted to the service on Nov. 13, 1917. Parents dead. He has no other disease besides the one which brought him to the hospital.

About a year go she noticed the appearance on the scalp of small swellings which suppurated soon and gave rise to a crust. He did not feel much pruritus in these swellings. The patient says that at home he was in contact with a horse but did not see any similar swellings on the horse. At present he shows on the upper part of the head great dry crusty patches, with obvious loss of hair. The latter is a type of alopecia which reminds one of syphilitic alopecia. The same lesions are seen further back and to a lesser degree at the sides. When the ochre crust has been lifted off a shining pink surface is seen. The crusts are fairly thick, some of them as much as two or three millimetres. From the lesions there is exhaled a very characteristic smell of rat's nest. On the other parts of the body are seen small pink spots possibly due to mosquito-bites. A small desquamative lesion is seen on the two eye-brows. Nothing more is seen in the patient, who does not suffer even of the slightest degree of pyrexia. (For further details see photographs 41 and 40).

Case-reports 3 and 4 we will not reproduce. Of case n. 3, a patient of the female sex, photograph n. 39 is reproduced which will give an idea of her lesions.

CULTURES

In all four dases that we had the opportunity of describing, characteristic cultures of *Achorion Schönleinii* were obtained on Sabouraud culture-media with glucos, malt-sugar and with molasses.

These cultures were also imbedded and cut. Sections were stained with GIEMSA, with haematoxylin-eosin, with toluidin blue, with SAHLI, as well as with the HEIDENHAIN and WEIGERT iron-haematoxylins, which are first rate stains and of great value for the identification (determination) of the parasite. Cultural examinations were also made by the dry-slide process, a technic attempted for the first time (A. NEVES). With the latter the morphology of the fungus was seen «au grand complet». Colonies on these slides are stellate and very much akin to those of *Sporotrichum Beurmanni* (Photograph n. 53).

In them one may see intercalate chlamydospores of different sizes, at times pedunculated, false spores (pseudo-spores) in chains; the amoeboid forms descsribed by SABOURAUD; the chandelier forms of favus; the pectinate organs etc. With this end in view, five or ten days after inoculations of culture-media, after immediate fixation of the slides in sublimate-alcohol during 1, 2, 3 to 12 hours, we washed them in alcohol at 70° with iodine and them in alcohol at 70° pure, and them we pla-

ced them in water until the alcohol had entirely disappeared. They were then ready to be stained for from half to one hour in GIEMSA, and were next examined with an immersion-lens. Rod-shaped forms (bacillary forms) were not unoften seen after this treatment. Beautiful chlamydospores are seen and the preparations thus obtained are excellent for a comprehensive study of the fungus.

Of the cultures some photographs are given. N. 42 shows the original culture from case 1 (M. A.), after twenty days' growth. N. 43 shows the same culture from the side so as to show the elevation. N. 44 shows the culture in life-size corresponding to the same case of report n. 1 (all of them on malt-sugar SABOURAUD). Photographs n. 44 and 45 show cultures from case n. 2. In all four cases cultures were obtained. Photograph 47 is from M. A., 2 months' growth.

DIRECT MICROSCOPICAL EXAMINATION.

Microscopical examination was made of hair-shafts from the goblet-shaped depressions, of pus taken from the latter and of sections. In all of these the parasite was seen. We have stained preparations in which the parasite is easily seen, not only in the sections but also on the hair-shafts and in the smears of pus. In the section with the typical disposition; in the others with the beautiful structure and dispositions more or less modified by the crushing.

ACHORION GALLINAE (1)

It is already a long time that we have tried to find *Achorion gallinae* (ME'GUIN et SABRAZES 1890 1893) in Bello-Horizonte. It would seem to be rare here. (2).

We found it in the fowl shown in the photograph shown (Fig. 1).

We will not go into the historic part, botanical systematics etc. of this parasite.

We will just report what was seen.

The disease, in our case, was at first located almost exclusively, on the crest, with minute and few lesions elsewhere (breast and neck).

Later it developed on the body and legs.

The crest did not show any white spots and we feel obliged to point out this fact.

The colour was clearly yellow, like old gold.

Later by experimental inoculation, we were able to see that this is the colour right from the outset of the lesions.

Scales, bulbs of feathers, crusts had manifestly this colour.

The disease would thus be rather «yellow crest» disease than white Crest of fowls.

SABOURAUD (Les Teignes, 1910, p. 557) uses the following words in describing the colour of the lesions:

«La tache blanche peut ainsi recouvrir la crête entière et sur ces deux faces, plus souvent la crête garde des parties saines. Plus une tache est âgée, mieux elle se détache sur le fond rouge de la crête».

The old-gold yellow of our case became more marked as it aged. When some of the affected feathers were plucked out, at the base of each, at the bulbar region, a real circle of definite colour, old-gold yellow was to be seen.

The disease had lasted some months, ans isolation, without any treat-

(1) Communication made to the Meeting of the Dermatology Clinic, June 30, 1920.

(2) After this we have been enabled to see other cases here.

ment, instead of improving the disease, made it worse.

Looking carefully at the lesions one had the impression of floury yellow crusts, covering the crest.

Scraping the lesions confirmed this impression. No goblet-shaped depressions («godets») were to be seen macroscopically.

Microscopical examination of the product obtained by scraping (prepared with lacto-phenol and potash) showed the presence of a lot of spores and mycelia of vaying appearance.

Cultures on SABOURAUD's maltose culture-medium proved to be hard to obtain at first.

Association with ordinary fungi from crest and feathers explain this difficulty.

When the cultures of the real parasite begin to develop, already the medium has been taken hold of by *Mucor, Aspergillus* and so forth.

The technical artifice of previous washing out and shaking in sterilised physiological saline solution before inoculation of media obviated the obstacle, which is so frequent in such cases, of contamination by other non-pathogenic fungi.

Without displacing these others, it is impossible to obtain growths of *Achorion gallinae.*

Pure cultures of this fungus were snow-white, with the appearance of belonging obviously to the «Trichophyton» (Fig. 8).

This appearance was long retained.

Age modified it, except as to colour.

Growths on dry slides (on a film of maltose-Sabouraud) furnished us with growths having the characters described by SABOURAUD (op. cit., page 568) for *Achorion gallinae.*

Cultures kept in the incubator at 30°C. for a number of days remained white.

Cultures in hanging drop (up to 41 days) showed a rich mycelian network.

We saw long septate mycelia with spindles in profusion, multiloculate and at first. without visible nucleus.

With prolonged observation we saw the nuclei appear in the spindles (70 days' growth).

Spindles had 5 or 6 loci.

There are minute external spores.

We inoculated, by scarification, these cultures on three men.

These inoculations gave no results.

Two fowls inoculated with the same material did not show any symptoms.

A fowl inoculated directly with the product obtained by scraping the crest of a sick fowl, showed, after ten days, typical lesions.

The lesion started with the formation of yellow crusts, fine and easily removed, and leaving after removal a damp red surface.

Other fowls, liying in the same chicken-yard, separated by a fine metal network, became ill as soon as the sick animal was introduced.

The sick cock died after a good many months, with a generalised dermatomycosis.

Almost all its feathers had a yellow circle round the bulb. The fowl was emaciated to a degree. Post-mortem examination did not show anything of interest.

Pathological investigations of the skin of the diseased fowl showed an appearance very similar to that described by SABOURAUD (op. cit., page 561).

In a depression of the stratum Malpighii there was a clump of parasites with the typical elements.

In the centre they made up a fine web, which thickened out into some of the peripheric branches.

We also saw, hardly broken up, the desquamating, horny layer, covering part of the lesion. Only once did

we find the typical appearance of goblet-shaped depressions («godets»).

In the remaining section, the parasites in regular masses, rested on the desquamated layer and were intermingled with it. We had the impression that in certain areas the parasite had dissociated the layers of the stratum disjunctum.

ALEUROPHORA BENIGNA n. sp. (1)

In 1916 one of us described a new parasite, related to *Malassezia* and, like this fungus, producing a benignant skin-disease, hence *Aleurophora benigna*.

In that publication the chief characters of the lesions and of the parasite are described.

We may only add that its parasitism is not as extensive as was thought. It may be and must have been taken for *Malassezia*.

A type-photograph is given of the appearance of the cutaneous lesion (Photograph n. 54).

BLASTOSPOROUS FUNGI

The cases of blastomycoses were six in number. In the pus of the abscesses, ins sections, in the beginning of some cultural growths the classical forms of blastosporous fungi were seen.

At times yeast-forms, round with typical double edges, at times typical budding forms with large or small buds. In the sections were seen the forms GASPAR VIANNA described and which have been so much described by North-American writers.

In smears of pus, we saw minute forms of round yeast-cells phagocyted by polymorphonuclears.

The appearance of the parasites in lesions reminded one of that described by HYDE and MONTGOMERY. The study of this group once more proved to us the necessity of a complete botanical study of the fungus (as well as the study of the clinical case) before a systematic determination of the fungus be made. It is enough to say that there have been cases, clinically classic types of the so-called blastomycoses, and in which the appearance of the cultures to the unaided eye reminded entirely of that of the blastomycetes, and in which, however, botanical study proved that there was no blastosporous fungus responsible.

One aspect alone is not enough.

It can show up, at mosy, one phase of the life of the fungus; 2º the unreasonability of the present division of the group of the Blastomycoses.

Already VUILLEMIN and DE BEURMANN and GOUGEROT went in to this subject with greater criterium. The macroscopic appearance of the cultures, on the classic SABOURAUD medium, was powdery, wrinkled, and therefore aberring from BUSSE's type in 4 cases. In the remainder the appearance was that of yeast (the classic appearance).

The complete botanic study of these parasites may perhaps be the subject of a future paper by one of us (A. NEVES).

CONCLUSIONS

I

General Conclusions:

a) Macroscopic Appearance of the fungus-cultures:

1. The general macroscopic appearance of a fungus-culture, on the culture-media generally used, is not decisive for the diagnosis of a species. Often enough this appearance is precarious.

2. Pigmentation of fungus-cultures on ordinary laboratory-media, cannot be taken as a decisive element in the determination of pathogenic fungi.

(1) Brazil-Medico, XXX, n. 47 Rio de Janeiro, Nov. 18, 1911, page 369.

3. As good technical methods for species diagnosis, the «dry slides», combined with SCHROETTER's technic and the classic SABOURAUD media, is what appears to give best results.

4. Smear preparations, as a means of studying the morphology of fungi, are always faulty. They are useful, however, in helping one out.

5. The combination of all the processes which can be used in the laboratory, is what, in the present state of our knowledge, can give the greatest number of positive results in mycological diagnosis.

b) Microscopic Appearance of cultures:

6) In this field good results will come from the greater number of methods used.

7. Often enough on one «dry slide», the whole botanical picture of the fungus will be found.

8. Rod-shaped (bacillary) forms, far from being anomalous, are quite common in cultures of pathogenic fungi (as in lesions caused by these fungi).

9. The process of fixation without drying in sublimate-alcohol and staining with GIEMSA gives first-rate results.

c) Human Material for Examination:

10. Material taken from Man must always be obtained with the greatest aseptic precautions.

11. Microscopical examination of material taken from lesions caused by fungi must be oft-repeated to obtain uniformly good results. Three examinations are not always sufficient.

d) Biological Reactions.

12. Biologic Reactions should, when possible, be tried as a subsidiary means, which may be of great value in obtaining the final result of the investigation.

SPECIAL CONCLUSIONS:
II

e) Microspora.

13. Clinically it is not possible to make a differential diagnosis between the different known species of microsporum.

14. On the classic SABOURAUD culture-medium, the external appearance of Microspora, is a great help in the determination of species.

15. On other culture-media the appearance is varying; they must not however be cast aside.

Microscopical examination of the cultures is of great value in the determination of the species and of the origin.

17. The microscopical appearance of material from the lesion is varying; it is generally of no use in the making of an exact diagnosis.

18. Microsporum conditions here (in Bello Horizonte) appear to be limited to children.

f) Sporotricha.

19. In thirty-one cases in which we obtained growths of Sporotrichum, the fungus belonged in every case to one species, *Sporotrichum Beurmanni*.

20. Only in three out of the thirty-one cases studied were parasites more or less plentiful in direct examination of the material.

21. The surest method of diagnosis is by inoculation of culture-media.

22. Rod-shaped and coccus forms are frequent in tissues infected by sporotricha.

23. Biologic tests, complement-fixation, sporo-agglutination, do not always agree with the positive results of the cultures.

24. Of the biologic tests, the second should be preferred, since it gives the greater number of positive results.

g) ALEUROPHORA n. g., n. sp.

25. The disease caused by *Aleurophora benigna* is allied to Pityriasis. The fungus, however, is aleurosporate.

h) *Malassezia.*

26. Clinical symptoms of this disease are not pathognomonic.

27. Microscopical appearance of the parasite in the lesions may vary. It easily looked for.

28. Negative cultures in the case of *Malassezia* are good evidence in favour of the diagnosis.

i) Trichophyta.

29. In Bello-Horizonte trichophyta are very much rarer than microspora (one of the former to 19 of the latter).

j) Favus.

30. Air-bubbles in microscopic examinations and in direct examination of the hair-shafts are not pathognomonic of Achoria.

31. Cultures of the four cases of our statistics were easily obtained. Pleomorphic forms were never seen.

k) Microsiphonata.

32. Mycoses produced by microsiphonata are rare in Bello-Horizonte.

l) Oidiosis.

33. Lesions, especially in the lungs, caused by *Oidium braziliense* are not very rare.

34. This fungus produces, in man as in animals, lesions very similar to those of tuberculosis.

35. Treatment with iodids is specific against this oidiosis.

36. There is in the cultures of *Oidium braziliense* a form of vegetative cyst similar to that found in Coccidium immitis. The results of division are however rod-shaped elements which begin anew the life-cycle of the parasite.

To Prof. EZEQUIEL DIAS our most sincere thanks for the facilities made for us in the Branch of the Instituto OSWALDO CRUZ in Bello-Horizonte.

To Prof. MARQUES LISBOA and to Dr. OCTAVIO MARQUES LISBOA our indebtedness for their kind help in the making of microphotographs.

LIST OF PHOTOGRAPHS AND DRAWING.

Phot. n. 1. From case n. 1. Case of Sporotrichosis. Primary lesion (the sporotrichotic sore is not visible). Lymphangitic and cutaneous lesions conspicuous.

Phot. n. 1-a. Same case. Primary sporotrichotic sore.

Phot. n. 2. Case of J. M. Sporotrichotic lymphangitis.

Phot. n. 2-a. Culture from the case of J. M. Three months and 17 days of development. Classic type of Sporotrichum-culture.

Phot. n. 2-b. Primary sporotrichotic sore. Case of J. M.

Phot. n. 2-c. Another view of the lesions of J. M.

Phot. n. 3. Growth on maltose-Sabouraud from case n. 1. Classic appearance, 47 days' development.

Phot. n. 4. Case of X. Culture of Sporotrichum. Classic type. 14 days of development.

Phot. n. 5. Case of A. L. Culture of the classic type, with 60 days of development. 1912. This is believed to be the first case of cultures obtained in Bello Horizonte.

Phot. n. 6. Growths without furrows, white and powdery of Sporotrichum.

Phot. n. 7. C. M. Sporotrichotic sore and lymphangitic lesions. Spontaneous healing.

Phot. n. 8. Sporotrichotic lesions on the lower limb. Patient 4536.

Phot. n. 9. Another view of the same lesions. Patient n. 4536.

Phot. n. 10. Sporotrichosis. Policlinic of Prof. Dr. ALEIXO. Out-patient 5081.

Phot. n. 11. Out-Patient 1835. R. M. Sporotrichosis.

Phot. n. 12. Case of R. A. *Malassezia furfur*. Lesions on back.

Phot. n. 13. Out-Patient 1975. *Malassezia furfur*. Pityriasis versicolor. Lesions on chest.

Phot. n. 14. Patient 5237. Pityriasis versicolor.

Phot. n. 15. Out-Patient 1671. Eczema marginatum of Hebra. Case report n. 3.

Phot. n. 16. Pleomorphic culture of *E. inguinale* (from scales found in arm-pits).

Phot. n. 17. *Epidermophyton inguinale*. Sixty-four days of development. Beginning of pleomorphism. Maltose Sabouraud.

Phot. n. 18. *Epidermophyton inguinale*. Culture of 18 days. Case n. 1.

Phot. n. 19. *Epidermophyton inguinale*. Case n. 4 of Out-Patient 1829.

Phot. n. 20. *Epidermophyton inguinale*. Case n. 1 of Out-Patient 1815.

Phot. n. 21. Hairs from beard. Out-Patient 1608. *Trichophyton equinum*. Growth on maltose-Sabouraud. Nineteen days.

Phot. n. 22. *Microsporum lanosum*. Twenty-five days growth on Maltose-Sabouraud. Out-Patient n. 1672.

Phot. n. 23. *Microsporum Audouini*. Nineteen days' growth. Out-Patient 1681.

Phot. n. 24. *Microsporum Audouini*. Nineteen days' growth. Out-Patient 1730.

Phot. n. 25. *Microsporum lanosum*. Pleomorphic form from hairs. Out-Patient 1962.

Phot. n. 26. C. R. M. *Microsporum lanosum*. Culture from hairs.

Phot. n. 27. *Microsporum lanosum*. B. J. Epidermal scales. 14 days of development.

Phot. n. 28. *Microsporum lanosum*. Hairs. Case n. 1943. Eighteen days' development.

Phot. n. 29. Case n. 16. J. H. M. *Microsporum lanosum*.

Phot. n. 30. *Microsporum-disease*. High magnification. Out-Patient 1975.

Phot. n. 31. *Microsporum-disease.* Out-Patient 1681.

Phot. n. 32. *Microsporum-disease.* Out-Patient 1682.

Phot. n. 33. *Microsporum-disease.* Out-Patient 1730.

Phot. n. 34. *Microsporum-disease.* Out-Patient 1730, another view.

Phot. n. 35. *Microsporum-disease.* Out-Patient 1730, another view.

Phot. n. 36. Culture of *Microsporum Audouini* from hairs. This belongs to Out-Patient 1730.

Phot. n. 37. M. A. Favus.

Phot. n. 38. Out-Patient 1667. Favus.

Phot. n. 39. W. S. Patient 5571. Favus.

Phot. n. 40. W. S. Patient 5571. Favus.

Phot. n. 41. Culture of *Achorium Schoenleinii.* M. A. Favus. Glucose-Sabouraud. From hair.

Phot. n. 42. Culture from a hair-shaft of M. A. on glucose-Sabouraud. Lateral view slightly magnified.

Phot. n. 43. Culture of *Achorium Schoenleinii.* Twenty days of development. Test culture-medium.

Phot. n. 44. Culture, case of patient 5511.

Phot. n. 45. Culture, case of patient 5511.

Phot. n. 46. M. A. Favus. Growth of 36 days. Glucose-Sabouraud. (Profile).

Phot. n. 47. Growth on dry slide of *Oidium brasiliense.* Ocular 5, obj. AA.

Phot. n. 48. Growth on dry slide of *Endomyces albicans.* Oc. 5, obj. AA.

Phot. n. 49. *Oidium brasiliense.* Culture on dry-slide. Cell which gives origin to the rod-shaped forms of the cultures. Breaking-open of cyst. Ocular 18, Obj. 1/12 (Homog. imm.). Giemsa-stain.

Phot. n. 50. Same as n. 49. Oc. 5, obj. 1/12. Giemsa-stain.

Phot. n. 51. Culture on «dry-slide». Favus. *Achorium schoenleinii,* obj. D, oc. 5.

Phot. n. 52. Case of G. Ill for 15 years. *Aleurophora benigna.*

Phot. n. 53. Cock with «yellow-crest».

Phot. n. 54 and 55. Quills with yellow neclace produced by *Achorium gallinae.*

Phot. n. 56. Ten days growth of *Achorium gallinae.*

Phot. n. 57. Twenty days growth of *Achorium gallinae.*

Phot. n. 58. Section of the skin of the cock shown above, typical goblet-appearance.

Drawing n. 1. Beginning culture on maltose-Sabouraud of *Oidium brasiliense* transplanted from the «dry-slides».